



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**AS BACTÉRIAS E SEUS PRODUTOS COMO AGENTES
TERAPÊUTICOS**

Trabalho submetido por
Filipa Carneiro Romão
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

outubro de 2019



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

AS BACTÉRIAS E SEUS PRODRUTOS COMO AGENTES TERAPÊUTICOS

Trabalho submetido por
Filipa Carneiro Romão
para a obtenção do grau de **Mestre** em Ciências Farmacêuticas

outubro de 2019

*“O período de maior ganho em conhecimento e experiência é o período mais difícil da vida de
alguém.”*

- Dalai Lama

Resumo

Os estudos realizados em bactérias e a sua aplicação como agentes terapêuticos têm vindo a ser largamente estudados. Atualmente, temos conhecimento de que as células bacterianas presentes no organismo humano superam em grande número as células humanas, o que nos leva ao entendimento de que a saúde humana está diretamente dependente do equilíbrio do microbioma.

Os potenciais benefícios de algumas bactérias são já descritos no organismo humano. A necessidade de procura de novas abordagens terapêuticas com objetivo de colmatar as limitações de algumas terapêuticas convencionais, trouxe consigo um novo olhar sobre os efeitos benéficos das bactérias e dos seus produtos como agentes terapêuticos.

Ao longo desta revisão, irão ser referidas algumas das terapêuticas com base em bactérias, como os probióticos, os prebióticos, os simbióticos e o transplante da microbiota fecal. Assim como, as aplicações terapêuticas de produtos resultantes das bactérias, como as bacteriocinas e os ácidos gordos.

Como é apresentado nesta revisão, podemos observar os seus efeitos benéficos em diversas áreas da saúde humana e compreender melhor os seus critérios de seleção e mecanismos de ação.

Palavras-chave: Bactérias; produtos bacterianos; agentes terapêuticos; microbiota; microbioma

Abstract

Studies on bacteria and their application as therapeutic agents date back to past times. It is well known that bacterial cells present in the human organism outnumber human cells, leading us to the understanding that human health is directly dependent on the balance of the microbiome.

It has been described the potential beneficial's of some bacteria in the human organism.

The need to look for new therapeutic approaches to address the limitations of some conventional therapies, has brought a different and fresh look at the beneficial effects of the bacterial products as therapeutic agents.

Throughout this review, some of the bacterial-based therapies such as probiotics, prebiotics, symbiotics and faecal microbiota transplantation will be mentioned. As well as the therapeutic applications of bacterial products such as bacteriocins and short chain fatty acids.

As presented in this review, we can observe their beneficial effects in various areas of human health. Also, we can have a better understanding of their selection criteria and mechanism of action.

Key-words: Bacteria's; bacterial products; therapeutic agents; microbiota; microbiome

Índice Geral

1. Introdução.....	11
2. Terapêutica Bacteriana com base no Microbioma	14
2.1 Probióticos.....	14
2.1.1 Tipos de probióticos	15
2.1.2 Critérios de seleção dos probióticos	17
2.1.3 Mecanismo de ação dos probióticos	19
2.1.4 Probióticos na Saúde Humana	21
2.2 Prebióticos.....	26
2.2.1 Tipos de Prebióticos.....	26
2.2.2 Critérios de Seleção dos Prebióticos.....	27
2.2.3 Mecanismo de Ação.....	28
2.2.4 Prebióticos na Saúde Humana	29
2.2.4.1 Prebióticos e distúrbios gastrointestinais	29
2.2.4.1.1 Síndrome do Colón Irritável e Doença de Crohn.....	29
2.2.4.1.2 Cancro colorretal	30
2.2.4.2 Prebióticos e o Sistema Imunológico	31
2.2.4.3 Outras aplicações dos Prebióticos	31
2.3 Simbióticos.....	32
2.3.1 Tipos de Simbióticos	33
2.3.2 Critérios de seleção dos simbióticos	33
2.3.3 Mecanismo de Ação.....	33
2.3.4 Simbióticos na saúde humana.....	34
2.4 Outras abordagens terapêuticas	35
2.4.1 Transplante da microbiota fecal.....	36
2.4.1.1 Indicações atuais e possíveis indicações em investigação	36

2.4.1.2 Critérios de seleção de doadores: inclusão e exclusão	37
2.4.1.3 Preparação fecal e do recetor	40
2.4.1.4 Métodos de entrega do material fecal	41
2.4.1.5 Monitorização dos pacientes e segurança	42
2.4.1.6 Desafios e considerações futuras.....	43
3. Terapêutica com base em Produtos Bacterianos	44
3.1 Bacteriocinas	44
3.1.1 Tipos de bacteriocinas	44
3.1.2 Mecanismo de ação.....	46
3.1.3 Bacteriocinas na saúde humana	48
3.2 Ácidos Gordos de Cadeia Curta	49
3.2.1 Tipos de Ácidos Gordos de Cadeia Curta.....	49
3.2.3 Mecanismo de ação dos Ácidos Gordos de Cadeia Curta	51
3.2.4 Ácidos Gordos de Cadeia Curta na Saúde Humana.....	52
4. Conclusão.....	53
5. Referências Bibliográficas	56

Índice de Figuras

Figura 1- Critérios de seleção dos probióticos e suas propriedades.	20
Figura 2 - Diversidade aplicacional dos psicobióticos.	25
Figura 3 - Mecanismo de Produção de AGCC's.....	51

Índice de Tabelas

Tabela 1- Microrganismos probióticos presentes em produtos farmacêuticos e como aditivos alimentares	16
Tabela 2 - Critérios de seleção dos probióticos e suas propriedades.....	17
Tabela 3 - Critérios de inclusão dos doadores. Adaptado	38
Tabela 4 - Critérios de exclusão dos doadores	38
Tabela 5 - Testes realizados aos doadores.....	39

Lista de Abreviaturas

AA – ácido acético	ISAPP – Associação científica internacional de probióticos e prebióticos
AB – ácido butírico	ITU – infecção do trato urinário
APP – ácido propiónico	LGG – <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG
AGCC's – ácidos gordos de cadeia curta	OMS – organização mundial de saúde
CU – colite ulcerosa	QSP – qualificação presumível de segurança
DA – dermatite atópica	SBOS - oligossacarídeos de soja
DAA – diarreia associada a antibióticos	SNC – sistema nervoso central
DC – doença de Crohn	TGI – trato gastrointestinal
DII – doença inflamatória intestinal	TOS – transgalactooligossacarídeos
EFSA – Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar	XOS – xilooligossacarídeos
EIC – eixo intestino-cérebro	
FDA – Food and Drug Administration	
FOS – frutooligossacarídeos	
GOS – galactooligossacarídeos	
GRAS – geralmente reconhecidas como seguras	
ICD – infecção por <i>Clostridium difficile</i>	
IMO – isomaltooligossacarídeos	

1. Introdução

Em 1680, Antonie Van Leeuwenhoek observou e comparou pela primeira vez a sua microbiota oral e fecal deparando-se com uma diversidade marcante de microrganismos, entre estes dois habitats (Ursell, Metcalf, Parfrey, & Knight, 2012).

O estudo e consequente descrição destes microrganismos, aos quais atribuiu o nome de “animalcules” apenas se tornou possível devido à invenção de um instrumento construído pelo mesmo, o microscópio de lente única, permitindo assim a observação das primeiras bactérias (Amsterdamska, 2008).

O trabalho realizado por Van Leeuwenhoek, em microscopia, gerou um grande incentivo na exploração e reconhecimento do universo microbiano (Worboys, 2001).

Até ao século XVIII, cientistas como John T. Needham (1713-1799), Comte de Buffon (1707-1788) e Lazzaro Spallanzani (1729-1799), realizaram algumas observações destes microrganismos, criando o debate sobre a possibilidade da geração espontânea dos mesmos a partir de matéria orgânica. Contudo, ainda não parecia relevante a criação de uma especialidade científica referente a este tema (Amsterdamska, 2008).

Apenas, por volta do início de 1880 foi empregue pela primeira vez o termo bacteriologia, tornando-se esta uma Especialidade Institucionalizada. O estudo bacteriano revelou-se de extrema importância no reconhecimento de doenças, sendo fundamental a sua inclusão em áreas como a Medicina e a Saúde Pública (Amsterdamska, 2008). Os primeiros bacteriologistas tinham como principal objetivo, identificar e definir os microrganismos responsáveis por todas as doenças transmissíveis e, por conseguinte, formas de interromper a sua transmissão ou a sua total eliminação (Worboys, 2001).

Os estudos realizados em microrganismos pelo químico francês Louis Pasteur (1822-1895), conduziram à abordagem de dois temas controversos na época, a teoria da fermentação e a impossibilidade/possibilidade da geração espontânea. Charles Cagniard de Latour (1777-1859), Theodor Schwann (1810-1882) e Friedrich Kützinger (1807-1893) também já tinham feito anteriormente afirmações relativamente à importância dos microrganismos vivos nos processos de fermentação. No entanto, foi Pasteur que salientou nos seus estudos o valor do processo de fermentação e putrefação na natureza

trazendo a partir deles uma ligação nas investigações do papel dos micróbios na causa da doença (Amsterdamska, 2008).

Na Alemanha, Robert Koch (1843-1910), formado em medicina, tornou-se um dos maiores entusiastas no reconhecimento e desenvolvimento bacteriológico, deixando um legado importantíssimo na história da microbiologia médica. As suas técnicas laboratoriais inovadoras, como inoculações, *in vivo* e *in vitro*, a obtenção de culturas puras em meios sólidos, a fixação de bactérias em lâmina através do método do esfregaço e a utilização de novos corantes, tornaram-se métodos base na manipulação de microrganismos em laboratórios bacteriológicos até à atualidade (Lakhtakia, 2014).

Foi em 1876, com a descrição do ciclo de vida da espécie *Bacillus anthracis*, que descobriu a importância dos esporos na patogénese da doença, sendo o primeiro a demonstrar que uma bactéria específica origina uma doença específica, eliminando assim a teoria germinativa da doença (Blevins & Bronze, 2010). Koch, os seus alunos e alguns colaboradores, nas últimas duas décadas do século dezanove, tiveram um papel fundamental na identificação dos microrganismos responsáveis pela Difteria (Löffler, 1884), Febre Tifóide (Gaffy, 1884), Cólera (Koch, 1884) e tétano (Kitasato, 1889) (Blevins & Bronze, 2010).

O final do século dezanove trouxe grandes mudanças não só na forma de entendimento das doenças como também na organização de diversas pesquisas médicas, tornando as bactérias um dos temas centrais daquela época. A primeira metade do século vinte centrou-se no estudo da imunidade bacteriana e em investigações da especificidade bacteriana, explorando a sua fisiologia, bioquímica e genética (Amsterdamska, 2008).

O microbioma humano abrange todos os micróbios que vivem dentro do nosso organismo. A microbiota classifica-se como os diversos microrganismos de um dado ecossistema, como por exemplo o trato gastrointestinal, a pele, as vias aéreas, o trato urogenital e outros. Enquanto que o microbioma apresenta-se como os genomas desses ecossistemas (Ursell et al., 2012). Presentemente, temos conhecimento de que as células bacterianas superam em grande número as células humanas, levando-nos ao entendimento de que a saúde humana está diretamente dependente do equilíbrio do microbioma.

O equilíbrio microbiano está associado a uma vasta diversidade de espécies, a uma boa capacidade funcional e a resistência a doenças. Por conseguinte, a diminuição de um destes parâmetros traduz-se numa incapacidade funcional tornando o organismo mais suscetível a patologias (Grady, Petrof, Claud, & Hospital, 2017).

O trato gastrointestinal (TGI) é o órgão mais colonizado do corpo humano, com uma carga microbiana que compreende 10^{11} bactérias / mL no cólon, representado assim a maior interface entre o organismo humano e o ambiente externo (Coleman & Haller, 2018).

Atualmente, a microbiota intestinal tem vindo a ser alvo de vários estudos devido ao seu envolvimento em diversas funções do organismo humano, tornando-se uma área de grande interesse a nível terapêutico (Boem & Amedei, 2019).

Esta presente monografia tem como objetivo compreender qual o papel das bactérias e dos seus produtos na saúde humana, como agentes terapêuticos. Com o surgimento de novas aplicações destes microrganismos, surgem também novas questões relacionadas com a seleção adequada dos mesmos, quais os seus mecanismos de ação e por fim a sua segurança e eficácia terapêutica. Esta monografia está dividida em dois grandes temas, um sobre a terapêutica bacteriana com base no microbioma humano e outro sobre a terapêutica com base em produtos bacterianos. O principal objetivo desta monografia é apresentar uma revisão geral sobre este tema, que nos últimos tempos tem gerado um grande interesse a nível da saúde pública.

2. Terapêutica Bacteriana com base no Microbioma

2.1 Probióticos

Foi com Ilia Miecznikow, em 1905, que ao demonstrar particular interesse nos potenciais benefícios do ácido láctico na saúde humana, propôs a teoria de que os lactobacilos usados na produção de iogurte originavam um impacto positivo na saúde da população (Puebla-barragan & Reid, 2019).

A palavra probiótico provém do grego e quer dizer “a favor da vida”. Pensa-se que foi Ferdinand Vergin que formulou o termo probióticos, em 1954. Pouco tempo após a criação deste termo, Lilly e Stillwell, em 1965, caracterizaram os probióticos como microrganismos que estimulam o desenvolvimento de outros microrganismos (Grady et al., 2017).

Desde então a definição de probiótico foi diversas vezes alterada. Em 1989, Fuller declarou que os probióticos devem ser microrganismos viáveis e exercer um efeito benéfico sobre o organismo humano. Porém, em 1998, Guarner e Schaafsma, expuseram a importância do uso de uma dose apropriada dos probióticos, para que pudesse ser alcançado o efeito desejado (Markowiak & Slizewska, 2017).

Atualmente, os probióticos são definidos como “microrganismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde humana”. Esta definição foi formulada em 2002 pelos especialistas dos grupos de trabalho da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) e da Organização Mundial da Saúde (OMS) e foi revista, em 2013, e mantida até aos dias de hoje pela Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (ACIPP) (Markowiak & Slizewska, 2017).

2.1.1 Tipos de probióticos

É importante salientar, que as bactérias são classificadas com base num sistema hierárquico de acordo com as suas características fenotípicas (características morfológicas, fisiológicas e químicas) (Schleifer, 2009). As bactérias podem ser classificadas de acordo com o seu género e a sua espécie, sendo a espécie considerada a unidade básica da classificação (Kayser, Bienz, Eckert, & Zinkernagel, 2005). Por exemplo, a espécie bacteriana *Lactobacillus rhamnosus* pertence ao género *Lactobacillus*.

Os probióticos utilizados no organismo humano pertencem principalmente aos seguintes géneros: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Streptococcus* e *Enterococcus*. Para além destas, algumas bactérias Gram-positivo, pertencentes ao género *Bacillus* e algumas estirpes de leveduras pertencentes ao género *Saccharomyces* são presentemente, aplicadas em alguns produtos probióticos (Tsai et al., 2019).

A qualidade e eficácia são dois fatores de extrema importância na seleção da estirpe probiótica a ser utilizada. Até 2002 não havia ainda nenhuma regulamentação que permitisse afirmar a eficácia e segurança dos microrganismos probióticos utilizados. Foi nessa altura, que a FAO e a OMS publicaram as Diretrizes para a Avaliação de Probióticos nos Alimentos, estabelecendo desta forma padrões de segurança e eficácia na utilização destes microrganismos (Markowiak & Slizewska, 2017).

Atualmente, os probióticos usados para consumo humano ou animal, estão sujeitos a regulamentos contidos na lei geral dos alimentos. Nos EUA, os microrganismos usados para fins de consumo devem ser geralmente reconhecidas como seguras (GRAS) pela Food and Drug Administration (FDA), que é uma agência federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos EUA, enquanto que na Europa foi imposto o termo Qualificação Presumível de Segurança (QPS) pela Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA) (Grady et al., 2017).

A tabela 1 retrata os microrganismos probióticos presentes em produtos farmacêuticos e como aditivos alimentares.

Tabela 1- Microrganismos probióticos presentes em produtos farmacêuticos e como aditivos alimentares. Adaptado de: (Markowiak & Slizewska, 2017)

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Outras bactérias ácido-lácticas	Outros microrganismos
<i>L. acidophilus</i>			
<i>L. amylovorus</i>			
<i>L. casei</i>	<i>B. adolescentes</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Bacillus clausii</i>
<i>L. gasseri</i>	<i>B. animalis</i>	<i>faecium</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>L. helveticus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	Nissle 1917
<i>L. johnsonii</i>	<i>B. breve</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Saccharomyces</i>
<i>L. pentosus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>thermophilus</i>	<i>cerevisiae</i>
<i>L. plantarum</i>	<i>B. longum</i>		(<i>bourdali</i>)
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			

As bactérias principalmente utilizadas em produtos farmacêuticos são: *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. grassei*, *L. helveticus*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *B. adolescentes*, *B. animalis*, *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus thermophilus*, *Bacillus clausii*, *Escherichia coli* Nissle 1917 e *Saccharomyces cerevisiae (bourdali)*. No entanto algumas bactérias também podem ser utilizadas como suplementos alimentares, sendo estas: *L. amylovorus*, *L. casei*, *L. johnsonii*, *L. pentosus*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *B. breve* e *Lactococcus lactis*. De acordo com a QPS, as bactérias que apresentam este critério são: *L. acidophilus*, *L. amylovorus*, *L. casei*, *L. gasseri*, *L. helveticus*, *L. johnsonii*, *L. pentosus*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *B. animalis*, *B. longum*, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Bacillus clausii* e *Saccharomyces cerevisiae (bourdali)* (Markowiak & Slizewska, 2017).

2.1.2 Critérios de seleção dos probióticos

Nem todas as espécies bacterianas apresentam características probióticas específicas na sua função. Os critérios na seleção dos probióticos têm por base:

- Origem e inocuidade das estirpes;
- Capacidade de resistência no organismo;
- Capacidade de adesão à mucosa intestinal;

A segurança de uma estirpe é caracterizada pela sua origem, a ausência de culturas patogênicas associadas e ao seu perfil de resistência a antibióticos. Relativamente à sua funcionalidade, estas não devem ser absorvidas no trato gastrointestinal e devem ter um efeito imunomodulador (Markowiak & Slizewska, 2017).

A tabela 2 esquematiza os três principais critérios e as propriedades que estão inerentes à seleção dos probióticos.

Tabela 2 - Critérios de seleção dos probióticos e suas propriedades. Adaptado de: (Markowiak & Slizewska, 2017)

<i>Critério</i>	Propriedades
<i>Segurança</i>	Origem humana ou animal
	Isolado do trato gastrointestinal de indivíduos saudáveis
	Histórico de uso seguro
	Ausência de dados associados a doença infecciosa
	Ausência de capacidade de clivagem de ácidos biliares
	Ausência de efeitos adversos
	Ausência de genes responsáveis pela resistência a antibióticos localizados em elementos não estáveis
	Competitividade em relação à microbiota que habita o ecossistema intestinal
	Capacidade de sobreviver e manter a atividade metabólica e de crescer no local de destino
	Resistência a sais biliares e enzimas
	Resistência ao pH baixo do estômago

Funcionalidade	Competitividade em relação a espécies microbianas que habitam o ecossistema intestinal (incluindo espécies intimamente relacionadas)
	Atividade antagónica contra patogénicos (por exemplo, <i>Helicobacter pylori</i> , <i>Salmonella</i> sp., <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Clostridium difficile</i>)
	Resistência a bacteriocinas e ácidos produzidos pela microbiota intestinal endógena
	Adesão e capacidade de colonizar alguns locais específicos no organismo hospedeiro, e uma taxa de sobrevivência apropriada no sistema gastrointestinal
Usabilidade Tecnológica	Fácil produção de grandes quantidades de biomassa e a alta produtividade de culturas
	Viabilidade e estabilidade das propriedades desejadas das bactérias probióticas durante o processo de fixação (congelamento, liofilização), preparação e distribuição de produtos probióticos
	Alta taxa de sobrevivência de armazenamento em produtos acabados (em condições aeróbias e micro-aerofílicas)
	Garantia das propriedades sensoriais desejadas dos produtos acabados (no caso da indústria de alimentos)
	Estabilidade genética
	Resistência a bacteriófagos

Os requisitos associados à sua produção, surgem igualmente como um tema relevante, implicando que estes consigam manter as suas propriedades aquando o processo de armazenamento e manutenção.

2.1.3 Mecanismo de ação dos probióticos

Nos últimos tempos, tem havido um maior número de estudos realizados com probióticos, principalmente nos termos de seleção e características de culturas probióticas individuais e na sua possível aplicação e efeito na saúde humana.

São inúmeras as vantagens descritas dos benefícios dos probióticos na saúde humana. A sua principal vantagem é o efeito sobre o desenvolvimento da microbiota que habita o organismo, garantindo um equilíbrio adequado entre os patogénicos e as bactérias para a função normal do organismo (homeostase) (Grady et al., 2017).

Estudos moleculares e genéticos realizados permitiram determinar os efeitos benéficos dos probióticos, estes envolvendo quatro mecanismos (Grady et al., 2017):

1. Antagonismo através da produção de substâncias antimicrobianas;
2. Competição com patogénicos pela adesão ao epitélio e por nutrientes;
3. Imunomodulação do hospedeiro;
4. Inibição da produção de toxinas bacterianas.

Os primeiros dois mecanismos mencionados estão diretamente relacionados ao efeito noutros microrganismos. Estes são importantes na profilaxia e no tratamento de infeções e na manutenção do equilíbrio da microbiota intestinal do hospedeiro. A capacidade das estirpes probióticas se associarem, pode conduzir à formação de uma barreira protetora impedindo assim a colonização de bactérias patogénicas no epitélio (Markowiak & Slizewska, 2017).

As bactérias probióticas podem manifestar capacidades de adesão às células epiteliais bloqueando patogénicos. Este mecanismo exerce um efeito importante sobre a condição de saúde do hospedeiro. Para além disso, a adesão dos probióticos às células epiteliais pode desencadear uma cascata de sinalização, levando à modulação imunológica. Alternativamente, a libertação de alguns componentes solúveis, pode causar uma ativação direta ou indireta (através de células epiteliais) de células imunológicas. Esse efeito desempenha um papel importante na prevenção e tratamento de doenças contagiosas, bem como na inflamação crónica do trato gastrointestinal ou da pele (Catinean, Neag, Mitre, Bocsan, & Buzoianu, 2019; Kioussi et al., 2019).

O efeito imunomodulador da microbiota intestinal, incluindo bactérias probióticas, baseia-se em três fenómenos aparentemente contraditórios (Markowiak & Slizewska, 2017):

1. Indicação e manutenção do estado de tolerância imunológica a antígenos ambientais (nutricionais e inalatórios);
2. Indução e controlo de reações imunológicas contra patógenos de origem bacteriana e viral;
3. Inibição de reações auto-agressivas e alérgicas.

A figura 1 esquematiza os mecanismos de ação dos probióticos e os seus efeitos.

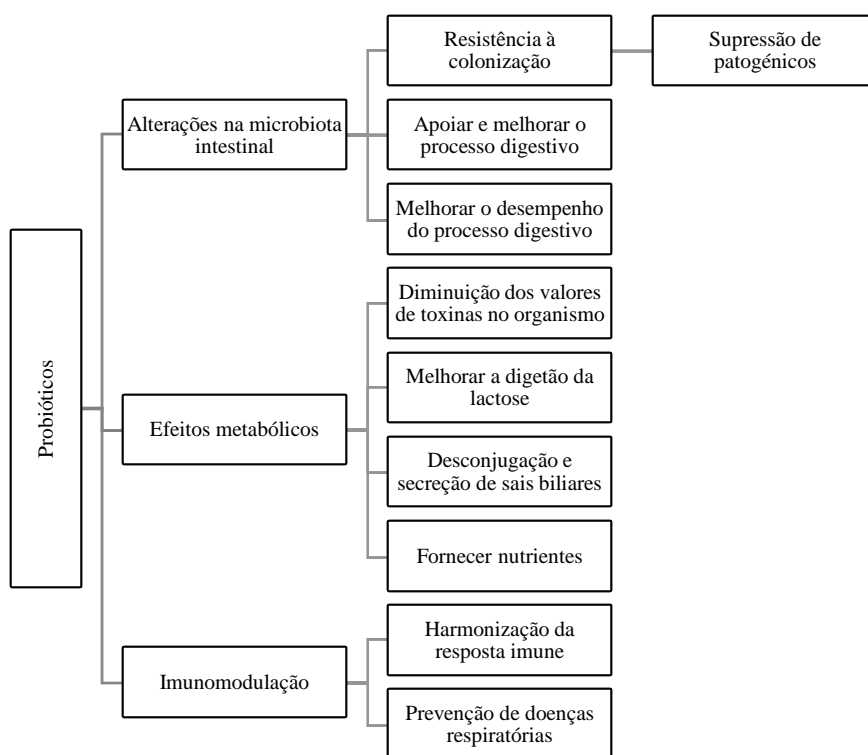


Figura 1- Critérios de seleção dos probióticos e suas propriedades. Adaptado de:(Markowiak & Slizewska, 2017)

Um papel importante na ação dos probióticos é desempenhado por características específicas de espécies e estirpes (espécies bacterianas que se diferenciam pela presença de diferentes genes, sendo estas classificadas com letras e números, por exemplo *Lactobacillus gasseri* EN-153471), tais como: estrutura celular, superfície celular,

tamanho, propriedades metabólicas e substâncias secretadas (Suez, Zmora, Segal, & Elinav, 2019).

2.1.4 Probióticos na Saúde Humana

A utilização dos probióticos na saúde humana surge a partir da necessidade de alternativa a terapêuticas que neste momento apresentem resultados aquém do desejado e efeitos adversos graves. Tem crescido exponencialmente o interesse nos produtos naturais e dos microrganismos, tanto na saúde humana como no nosso planeta. Isto deve-se a evidências encontradas nas propriedades genéticas e metabólicas da eficácia de estirpes probióticas demonstradas em estudos realizados (Puebla-barragan & Reid, 2019).

Atualmente, o conhecimento adquirido de estudos realizados permite-nos reconhecer que a composição da microbiota intestinal afeta os diferentes sistemas orgânicos, onde se incluem o sistema cardiovascular, imunológico, metabólico e neurológico.

O maior número de estudos realizados sobre os probióticos na saúde humana são referentes à promoção da homeostase gastrointestinal. Um exemplo do uso de probióticos é no restabelecimento da função e da maturidade intestinal dos recém-nascidos. De acordo com uma revisão realizada de alguns ensaios clínicos randomizados, em que foi realizada a administração de probióticos a neonatos prematuros (tempo de gestação < 37 semanas) e com baixo peso ao nascer (< 2500g), demonstraram resultados promissores na suplementação probiótica através de alimentação entérica. Os resultados obtidos demonstraram tolerância à alimentação, melhor ganho de peso e velocidade de crescimento e diminuição do tempo de transferência de alimentação orogástrica para o leite materno ou leite em fórmula, sem nenhum efeito adverso relatado. Contudo, são necessárias mais evidências para que possamos seguramente alegar de que a suplementação probiótica em recém-nascidos prematuros é segura e benéfica (Puebla-barragan & Reid, 2019).

O uso de probióticos é maior na prevenção de diarreia associada a antibióticos (DAA). Uma revisão sistemática recente comparou a eficácia e tolerância de diferentes probióticos para DAA, na qual se pode concluir de que o tratamento com *Lactobacillus*

rhamnosus GG (LGG) demonstrou resultados significativamente superiores aquando a comparação com outras estirpes probióticas, quando usado como tratamento profilático deste distúrbio. No entanto, a espécie *Lactobacillus casei* demonstrou uma eficácia superior na diminuição da taxa de infeção por *Clostridium difficile*. A observação destes resultados permitiu a consciência de que a utilização da estirpe probiótica deve ser diferente de acordo com a condição clínica do paciente e dos resultados desejados (Chong, Chin, Looi, Wong, & Madhavan, 2019).

A infeção gastrointestinal por *Helicobacter pylori*, é um distúrbio que ocorre a uma grande escala a nível mundial. A utilização da estirpe probiótica *L. casei* Shirota demonstrou resultados promissores na inibição do crescimento da *H. pylori*, após 6 semanas de administração, enquanto que as estirpes *L. acidophilus* La5 e *B. lactis* Bb12 revelaram efeitos inibitórios da mesma, utilizando também um tempo de administração de 6 semanas (Markowiak & Slizewska, 2017).

A doença inflamatória intestinal (DII) é uma doença crónica do intestino grosso da qual derivam doenças como a Colite Ulcerosa (CU) e a doença de Crohn (DC). Diversos estudos analisaram os benefícios da administração de probióticos na DII. A administração durante 12 semanas do probiótico VSL#3 demonstrou resultados benéficos na remissão da CU ativa. Quanto à DC os resultados obtidos quanto à sua eficácia com terapêutica probiótica não foram bem estabelecidos e por isso será necessária a realização de novos estudos para fundamentar os resultados (Puebla-barragan & Reid, 2019).

Nem todos os estudos realizados de probióticos têm como finalidade o tratamento de doenças gastrointestinais. Nos últimos anos tem se vindo a dar uma maior relevância à relação entre a microbiota e várias doenças, especialmente doenças imunomediadas. Como a terapia convencional utilizada neste tipo de patologias é bastante limitada em relação à sua eficácia e segurança tornou-se necessário recorrer a novas abordagens terapêuticas, sendo os probióticos uma das mais promissoras. A pele, para além de ser o maior órgão do corpo humano, é o que apresenta a maior taxa de exposição em relação aos fatores ambientais e ao stress. Este possui um vasto ecossistema microbiano e complexo. O género *Staphylococcus* é o género dominante nas áreas sebáceas e húmidas, enquanto que *Propionibacterium* domina apenas a zona sebácea e *Corynebacterium* apenas zonas húmidas (Kiouisi et al., 2019).

A Dermatite Atópica (DA) é uma das patologias cutâneas mais frequente e atualmente, tem um impacto bastante significativo na saúde pediátrica. *Staphylococcus aureus* é uma espécie bacteriana comensal e localiza-se principalmente no nariz. Em pacientes que apresentem DA existe um aumento da prevalência desta espécie bacteriana, principalmente nas zonas lesionadas. Como a diversidade microbiana sofre diminuição neste tipo de patologia, *S. aureus* consegue proliferar mais facilmente. Também foi observada a redução de *Faecalibacterium prausnitzii* spp. em doentes com DA quando comparados com população saudável. A ocorrência de disbiose favorece o rompimento da integridade da barreira intestinal, levando a um aumento da sua permeabilidade, que se traduz numa porta de entrada de algumas toxinas e micróbios na circulação sistémica permitindo o alcance dos mesmos a alguns tecidos, como por exemplo a pele (Catinean et al., 2019).

Um estudo realizado em 50 crianças com DA com a administração durante 8 semanas de *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* demonstrou resultados significantes na redução da severidade das manifestações da doença. Outro estudo realizado em 512 grávidas e em 474 dos seus recém-nascidos, em que foi feita a administração de *L. rhamnosus* HN001 nas mulheres a partir das 35 semanas de gestação até aos 6 meses após o parto, se amamentarem, e aos recém-nascidos desde o seu nascimento até aos 2 anos de idade. Os resultados obtidos demonstraram uma redução significativa, da prevalência de eczema nos bebés (Markowiak & Slizewska, 2017).

As patologias associadas ao trato urogenital, como a infeção do trato urinário (ITU) e a vaginose bacteriana (VB), são infeções bastante recorrentes, principalmente no sexo feminino. Diversos probióticos foram desenvolvidos para prevenir as infeções urogenitais, como é o caso da estirpe *Lactobacillus acidophilus* A-212, *Lactobacillus rhamnosus* A-119 com *Streptococcus thermophilus* A-336, *Lactobacillus rhamnosus* PBO1 com *Lactobacillus grassei* EN-153471 (EB01) e *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35 em óvulos vaginais (Puebla-barragan & Reid, 2019).

A administração vaginal de supositórios contendo *Lactobacillus* foi a primeira a ser realizada nos anos 80. A partir desta, novas estirpes probióticas foram alvo de estudo na saúde urogenital, nestas está incluído, *Lactobacillus crispatus* CTV05 utilizado na prevenção de infeções recorrentes do trato urinário, a combinação de *Lactobacillus rhamnosus* IMC 501 com *Lactobacillus paracasei* IMC 502 na manutenção da saúde

vaginal, *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35 na VB e na candidíase vulvovaginal e *Lactobacillus gasseri* EN-153471 (EB01) como adjuvante no tratamento da VB proveniente de efeitos secundários decorrentes da administração de antibioterapia (Puebla-barragan & Reid, 2019).

A utilização dos probióticos é importante em doenças do foro neurológico. Os probióticos que atuam neste nível, surgem como uma subclasse com o nome de psicobióticos e que são capazes de influenciar as funções e comportamentos associados ao sistema nervoso central (SNC). A sua ação é feita através do eixo intestino-cérebro (EIC) por intermédio de vias humorais, imunológicas, neurológicas e metabólicas com a finalidade de beneficiar tanto a função gastrointestinal como também a capacidade antidepressiva e ansiolítica (Oleskin & Shenderov, 2019).

Este termo foi estabelecido em 2013 por Dinan e seus colegas, sendo por isso uma abordagem terapêutica recente. Estes preconizaram a sua utilização no tratamento de doenças neuropsiquiátricas (Cheng, Liu, Wu, Wang, & Tsai, 2019).

Os efeitos benéficos dos psicobióticos no cérebro são mediados por bactérias e estão atualmente a ser explorados como terapias diretas e/ou adjuvantes nos distúrbios psiquiátricos, no desenvolvimento neurológico e em doenças neurodegenerativas (Longsmith et al., 2019).

O esquema representado na figura 2, representa a diversidade aplicacional dos psicobióticos na saúde mental e neurológica (Cheng et al., 2019).

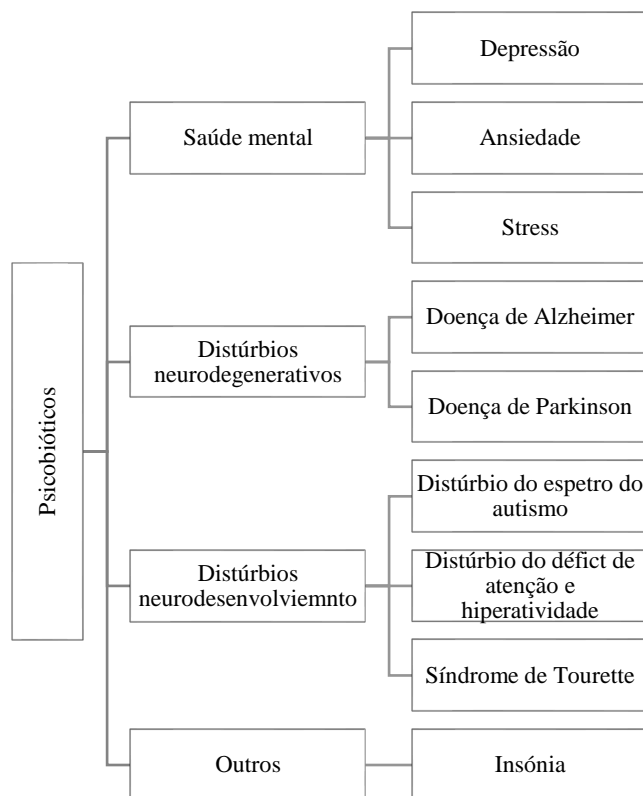


Figura 2 - Diversidade aplicacional dos psicobióticos. Adaptado de: (Cheng et al., 2019)

Os estudos dos psicobióticos ainda são realizados maioritariamente em ratos, contudo existem alguns estudos da sua ação na saúde mental humana. Um exemplo é um estudo caso-controlo, duplo-cego e randomizado em que a administração de uma combinação probiótica de *Lactobacillus helveticus* com *Bifidobacterium longum*, durante 30 dias, revelou uma diminuição dos níveis de ansiedade e depressão em mulheres saudáveis (Parmar, 2016).

Outro estudo caso-controlo, duplo-cego e randomizado foi efetuado em 39 pacientes com síndrome de fadiga crónica, e consistia na administração de uma estirpe Shirota de *Lactobacillus casei* ou de um placebo com o mesmo sabor e aparência, 3x/dia durante 8 semanas. Um dos resultados revelou que existiu um decréscimo nos níveis de ansiedade dos pacientes aos quais foi administrada a estirpe (Rao et al., 2009).

Como podemos observar, a utilização dos psicobióticos na saúde humana demonstra resultados promissores, apesar de serem ainda escassos.

2.2 Prebióticos

Foi na década de 1980 que surgiu o pressuposto de que alguns compostos presentes na dieta poderiam promover o crescimento de algumas estirpes bacterianas presentes no intestino, estando estas intimamente ligadas à saúde do hospedeiro. Porém, apenas em 1955, foi introduzido pela primeira vez o conceito de prebiótico por Glenn Gibson e Marcel Roberfroid, descrevendo como “um ingrediente alimentar não digerível que afeta benéficamente o hospedeiro ao estimular seletivamente o crescimento e/ou a atividade de uma ou de um número limitado de bactérias no cólon e, assim, melhorar a saúde do hospedeiro” (Davani-Davari et al., 2019; Tsai et al., 2019)

No 6º encontro da Associação científica internacional de probióticos e prebióticos (ISAPP) foi definido Prebióticos Alimentares como “um ingrediente fermentado seletivamente que resulta em alterações específicas na composição e/ou atividade microbiota gastrointestinal, conferindo benefício(s) na saúde do hospedeiro” (Davani-Davari et al., 2019).

Os prebióticos são hidratos de carbono não digeríveis (fibra), podendo apresentar diversas estruturas moleculares, sendo que na sua grande maioria estes encontram-se naturalmente presentes nas dietas humanas e animais. Os termos fibras prebióticas e fibras dietéticas são aplicados alternadamente para compostos alimentares que não são digeridos no trato gastrointestinal. É importante salientar que existe uma diferença significativa na usabilidade dos termos referidos, enquanto que os prebióticos apenas são fermentados por grupos específicos de microrganismos, a fibra alimentar é usada pela maioria dos microrganismos do colón. Assim sendo, podemos concluir que um prebiótico pode ser uma fibra alimentar, contudo uma fibra alimentar nem sempre é um prebiótico (Markowiak & Slizewska, 2017).

2.2.1 Tipos de Prebióticos

Existem diversos tipos de prebióticos e estes são classificados de acordo com número de ligações de monómeros presentes entre si. De acordo com estas ligações podem ser classificados como: dissacarídeos (dois monossacarídeos), oligossacarídeos (três a dez monossacarídeos) e polissacarídeos (mais de dez monossacarídeos). Com base

nos estudos, que têm vindo a ser realizados nos últimos anos, são os oligossacarídeos que apresentam os critérios mais promissores e satisfatórios na classificação dos prebióticos, incluindo: frutooligossacarídeos (FOS), galactooligossacarídeos (GOS), isomaltoligossacarídeos (IMO), xilooligossacarídeos (XOS), transgalactooligossacarídeos (TOS) e oligossacarídeos de soja (SBOS) (Markowiak & Slizewska, 2017).

No entanto, estudos recentes têm vindo a demonstrar que os prebióticos não são apenas classificados como hidratos de carbono. A inulina é um polissacarídeo que pertence à categoria dos Frutanos, os estudos realizados demonstraram que esta apresenta capacidade de estimular seletivamente as bactérias ácido-láticas. O amido é um polissacarídeo do qual foi sugerida a sua classificação como prebiótico devido à sua elevada produção de butirato, que é um composto que promove a saúde humana. Os flavonoides derivados do cacau também são polissacarídeos que têm vindo a demonstrar, de acordo com estudos realizados *in vitro* e *in vivo*, a capacidade de estimulação das bactérias ácido lácticas. Existem ainda outros polissacarídeos que podem ser eventuais prebióticos, como a celulose, a hemicelulose ou a pectina (Davani-Davari et al., 2019).

2.2.2 Critérios de Seleção dos Prebióticos

Existem cinco critérios base que são utilizados para a classificação de um composto como prebiótico, sendo estes (Davani-Davari et al., 2019):

1. Demonstração de resistência ao pH ácido do estômago;
2. Não deve ser hidrolisado por enzimas;
3. Não deve ser absorvido no trato gastrointestinal;
4. Pode ser fermentado pela microbiota intestinal;
5. O crescimento e/ou atividade das bactérias presentes no intestino podem ser estimuladas por esse composto e esse processo melhora a saúde do hospedeiro.

De acordo com os primeiros três critérios descritos estes permitem que a absorção do prebiótico durante o seu percurso no trato gastrointestinal seja parcial ou nula, levando-o assim a conseguir atingir o colón, estando disponível para o metabolismo bacteriano no intestino (Pandey, Naik, & Vakil, 2015).

Apesar de diversos alimentos apresentarem na sua composição compostos prebióticos, a sua concentração não é suficientemente elevada para que seja possível a sua produção a uma escala a nível industrial. Para isso foi necessário procurar outro tipo de alternativas.

2.2.3 Mecanismo de Ação

Apesar dos prebióticos fazerem parte dos produtos naturais, estes também podem ser adicionados aos alimentos. Esta adição tem por base reforçar o valor nutricional e atingir de forma benéfica a saúde humana. O facto dos prebióticos não serem digeridos no trato gastrointestinal superior permite que estes ao atingirem o colón, de forma praticamente inalterada, sofram um processo de fermentação pelas bactérias nele presentes. Este consumo permite que haja uma alteração na composição da microbiota intestinal e da sua atividade metabólica (Markowiak & Slizewska, 2017).

Os prebióticos têm como principal objetivo estimular o crescimento e a atividade de bactérias benéficas no TGI, conferindo benefício à saúde do hospedeiro. Através de mecanismos que permitem a produção de substâncias antimicrobianas e de competição pela adesão ao epitélio e por nutrientes, a microbiota intestinal atua como uma barreira para patogénicos. Os produtos finais do metabolismo dos hidratos de carbono, através das bactérias presentes na microbiota, são principalmente os Ácidos Gordos de Cadeia Curta (AGCC's), que são compostos principalmente por: ácido acético (AA), ácido butírico (AB) e ácido propiónico (APP), que são subsequentemente usados pelo hospedeiro como fonte de energia (Grady et al., 2017).

Os AGCC's para além de fonte de energia também apresentam diversas funções fisiológicas importantes, incluindo a manutenção do pH luminal, inibindo o crescimento de patogénicos, influenciando a motilidade intestinal e reduzindo o cancro do colon, estimulando a apoptose das células cancerígenas. Para além disso, também atuam como moléculas sinalizadoras, reduzindo a produção de citocinas inflamatórias e aumentando a produção de células T reguladoras (Treg) no intestino grosso (Mohajeri et al., 2018).

A quantidade e composição de AGCC's e gás, produzidos pelos prebióticos após a fermentação da microbiota, levam à prevenção ou tratamento de algumas doenças inflamatórias específicas (Tsai et al., 2019).

2.2.4 Prebióticos na Saúde Humana

Como referidos anteriormente, os produtos de degradação dos prebióticos são principalmente AGCC's, sendo que estas moléculas são suficientemente pequenas para se difundir através dos enterócitos intestinais e entrar na circulação sanguínea. Portanto, os prebióticos são capazes de afetar não apenas a via GI, mas também outros órgãos e sistemas de locais distantes. Nesta secção apenas será referido como tratamento os prebióticos. Os AGCC's como agentes terapêuticos, serão referidos mais à frente devido ao facto de estes serem produtos derivados da fermentação de prebióticos (Mohajeri et al., 2018).

2.2.4.1 Prebióticos e distúrbios gastrointestinais

2.2.4.1.1 Síndrome do Colón Irritável e Doença de Crohn

Os prebióticos são largamente utilizados em doenças do trato gastrointestinal, duas das principais doenças, em que a terapêutica com prebióticos é aplicada, são a Síndrome do Colón Irritável e a Doença de Crohn. A primeira é uma alteração funcional, caracterizada por sintomas crónicos de dor abdominal e alteração de hábitos intestinais sem lesão do intestino. A segunda é uma doença inflamatória intestinal crónica, pode afetar qualquer parte do trato gastrointestinal e é caracterizada por sintomas como dores abdominais, febre, diarreia e perda de peso (Davani-Davari et al., 2019).

Na Síndrome do Colón Irritável, os prebióticos mais estudados para terapêutica são a inulina e os galactooligossacarídeos (GOS). Uma das estratégias de terapêutica é o tratamento com prebióticos específicos para estimular o crescimento da bifidobactéria,

visto que em indivíduos que apresentem o Síndrome, esta se encontra em menor concentração. Num estudo caso-controlo, cego e randomizado, 44 pacientes receberam uma mistura prebiótica de *trans*-galactooligossacarídeo em duas doses, 3.5g/dia e 7g/dia, durante 4 semanas. Em ambas as doses, a mistura prebiótica aumentou os níveis fecais da bactéria *Bifidobacterium*. Por outro lado, outro estudo caso-controlo, duplo-cego e randomizado, 98 pacientes receberam 20g/dia de fructooligossacarídeo (FOS) ou placebo, durante 12 semanas. Após a finalização do tratamento, apenas 58% dos pacientes revelou melhoria nos sintomas, comparando com 65.2% dos pacientes a receber placebo (Chong et al., 2019; Ford et al., 2014; Ford, Quigley, Harris, Lacy, & Moayyedi, 2018).

Na doença de Crohn existem alguns estudos com o uso de prebióticos no tratamento. Um exemplo é o de um ensaio clínico randomizado, efetuado em 2007, com a participação de 17 pacientes com Doença de Crohn ativa. Estes pacientes receberam ou 10g/dia de lactulose ou placebo, durante quatro meses e não houve melhoria nos pacientes a tomar lactulose. Outro exemplo é o de um ensaio clínico aberto, efetuado em 2006, com a participação de 10 pacientes com Doença de Crohn ativa que receberam 15g/dia de fructooligossacarídeos (FOS), durante 3 semanas. Este estudo revelou melhorias na condição dos pacientes, no entanto quando o mesmo estudo foi efetuado com uma amostra maior, 103 pacientes, foi provado que não existia benefício clínico (Davani-Davari et al., 2019; Lichtenstein, Avni-biron, & Ben-bassat, 2016).

2.2.4.1.2 Cancro colorretal

O cancro colorretal é a forma mais comum de cancro no trato gastrointestinal e é a terceira causa de cancro mundialmente. É caracterizado pelo crescimento de células anormais, no colón ou reto, que são capazes de invadir ou se espalhar por outras partes do corpo. Os sintomas mais recorrentes são a presença de sangue nas fezes, perda de peso e constante sensação de fadiga (Ambalam, Raman, Purama, & Doble, 2016).

Os prebióticos podem ser considerados agentes anticancerígenos por possuírem várias propriedades, nomeadamente a de estimulação de bactérias benéficas comensais do intestino; a de produção de produtos de fermentação, como ácido láctico e ácidos gordos de cadeia curta; a de modificação da expressão génica no cécum, colón e fezes; aumento

da absorção de micronutrientes no colón; a modelação de enzimas metabólicas xenobióticas e a modelação da resposta imune (Raay & Allen-vercoe, 2017; Raman et al., 2013).

2.2.4.2 Prebióticos e o Sistema Imunológico

Os prebióticos têm vários efeitos benéficos a nível da estimulação do sistema imunológico, podendo este efeito ser direto ou indireto. O tratamento com prebióticos aumenta a função imunológica, principalmente pelo aumento da população de bactérias benéficas e dos seus produtos no intestino do hospedeiro. Relativamente aos efeitos indiretos que podem ter, é salientada a propriedade de mudar o equilíbrio da população bacteriana intestinal, de modo a aumentar a população de bactérias benéficas e protetoras do intestino, como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*. Um exemplo é a inibição das infeções por *Salmonella*, pela ligação da manose a esta bactéria, reduzindo assim a colonização de bactérias patogénicas. Outro exemplo é o seu papel na expressão génica responsável pela produção de citocinas, esta expressão é afetada pela absorção de ácidos gordos de cadeia curta pelo intestino (Shokryazdan, Faseleh, & Navidshad, 2016).

2.2.4.3 Outras aplicações dos Prebióticos

Para além das acima mencionadas, os prebióticos têm também sido bastante utilizados noutras áreas médicas. Os efeitos da administração de prebióticos está também relacionado com o sistema nervoso, através da regulação de fatores neurotróficos e de hormonas. A nível dermatológico, o consumo de prebióticos revelou uma diminuição do desenvolvimento de doenças alérgicas da pele. A nível cardiovascular, os prebióticos têm uma influência indireta no risco de Doenças Cardiovasculares por serem capazes de reduzir elementos inflamatórios (Davani-Davari et al., 2019).

Como é notório, os prebióticos têm bastante influência na saúde humana, sendo capazes de atuar a vários níveis, quer de forma direta, quer de forma indireta. No entanto,

a informação é escassa em certas áreas específicas e quanto aos efeitos positivos a longo prazo.

2.3 Simbióticos

Os simbióticos são suplementos alimentares compostos por probióticos e prebióticos, de forma sinérgica, para melhorar a eficácia terapêutica. Esta sinergia consiste numa estirpe probiótica e um substrato prebiótico, com a finalidade deste substrato aumentar o crescimento do probiótico. Os simbióticos são então utilizados para promover a sobrevivência de microrganismos adicionados à comida e para estimular a proliferação de bactérias comensais da flora gastrointestinal (Markowiak & Slizewska, 2017).

Os simbióticos são promissores na saúde humana como uma estratégia terapêutica, acima de tudo estão destacados para cumprir dois objetivos na terceira meta dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS). Estes objetivos são “Até 2030, acabar com as mortes evitáveis de recém-nascidos e crianças menores de 5 anos, com todos os países a tentarem reduzir a mortalidade neonatal para pelo menos 12 por 1.000 nados-vivos e a mortalidade de crianças menores de 5 anos para pelo menos 25 por 1.000 nados-vivos” e “Até 2030, reduzir um terço a mortalidade prematura por doenças não transmissíveis via prevenção e tratamento, e promover a saúde mental e o bem-estar” (Gurry, 2017; Nations, n.d.).

2.3.1 Tipos de Simbióticos

Os tipos de simbióticos até agora mais estudados são a combinação entre (Markowiak & Slizewska, 2017):

- bactérias do género *Lactobacillus* com inulina;
- bactérias dos géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus* e *Bifidobacterium* e fructooligossacarídeos;
- bactérias dos géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* e fructooligossacarídeos;
- bactérias dos géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e oligofrutose;
- bactérias dos géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e inulina.

2.3.2 Critérios de seleção dos simbióticos

O primeiro critério de seleção de simbióticos é a seleção de um prebiótico e de um probiótico que, separadamente, tenham efeitos positivos na saúde do hospedeiro. O segundo critério de seleção passa pela seleção de um prebiótico com propriedades específicas, como a estimulação do crescimento de microrganismos, benéficos para a saúde sem que outros microrganismos proliferem, que tenha um efeito favorável no probiótico (Markowiak & Slizewska, 2017).

2.3.3 Mecanismo de Ação

Os simbióticos têm atividade em todo o intestino, isto porque, a combinação sinérgica de um probiótico, com atividade no intestino delgado e grosso, e de um prebiótico, com atividade no intestino grosso, leva a um maior efeito. Os simbióticos são também mais estáveis quando expostos a diferenças de pH, temperatura e oxigenação no intestino do hospedeiro, uma vez que a combinação dos pré com probióticos faz com que estes últimos adquiram também uma maior tolerância a estas diferenças (Pandey et al., 2015).

Os dois mecanismos de ação dos simbióticos são a ação através da melhoria de viabilidade dos microrganismos probióticos e a ação através da provisão de efeitos de saúde específicos. Os simbióticos são então capazes de modelar a atividade metabólica no intestino, manter a bioestrutura intestinal, desenvolver a presença de bactérias benéficas na flora intestinal e inibir a presença de bactérias patogênicas no trato gastrointestinal (Markowiak & Slizewska, 2017).

2.3.4 Simbióticos na saúde humana

As propriedades terapêuticas esperadas nos simbióticos incluem as de antibacteriano, anticancerígeno e antialérgico.

A nível da saúde humana, os simbióticos são responsáveis pela manutenção do equilíbrio da microbiota intestinal, pela presença de bactérias dos géneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, são capazes de melhorar a função hepática em indivíduos que sofrem de cirrose e a capacidade imunomoduladora e por fim previnem a translocação de bactérias e diminuem, em indivíduos pós-cirúrgicos, a incidência de infeções nosocomiais (Pandey et al., 2015).

Relativamente à melhoria de função hepática, esta é possível através da translocação de produtos do metabolismo bacteriano, tais como lipopolissacrídeos, etanol e ácidos gordos de cadeia curta, que penetram o fígado. Os ácidos gordos de cadeia curta estimulam a síntese de triacilgliceróis hepáticos, responsáveis pela desintoxicação do órgão (Krumbeck, Walter, & Hutkins, 2018).

As áreas de estudo da ação dos simbióticos são diversas, existem estudos sobre os seus efeitos na obesidade, com resultados de perda de peso e diminuição do índice de massa corporal, utilizando uma combinação maioritariamente composta por *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e FOS. Na diabetes tipo 1 e 2, a combinação sinérgica entre *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, FOS e inulina é também maioritária nesta área a nível de simbióticos, com apresentação também de melhorias significativas (Eslamparast et al., 2014; Sanchez et al., 2014).

A utilização da terapêutica baseada em simbióticos tem vindo a ser também largamente estudada em doenças gastrointestinais, como síndrome do colón irritável, doença inflamatória do intestino, eliminação de *Helicobacter* e diarreias. As combinações são compostas maioritariamente por *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e inulina e as melhorias são visíveis, em comparação com outro tipo de terapêuticas, a nível da colite ulcerosa (Sanchez et al., 2014; Šmid, Strniša, Bajc, & Vujic, 2016).

Por último, outro exemplo da utilização de simbióticos na saúde humana, é o estudo dos seus efeitos nos diferentes tipos de cancro e efeitos secundários associados (Rafter et al., 2007).

É provável que os simbióticos, futuramente, sejam mais utilizados como agentes profiláticos do que como agentes terapêuticos, sendo que é possível que tenham impacto na realização dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável, através da prevenção e manutenção do estado de saúde.

2.4 Outras abordagens terapêuticas

Uma das limitações da terapia probiótica é a utilização de apenas uma estirpe ou no máximo algumas estirpes bacterianas na disbiose humana. A ecoterapêutica tem como objetivo, colmatar esta insuficiência com a aplicação de uma terapia baseada no aproveitamento da comunidade bacteriana proveniente diretamente do trato gastrointestinal humano, por forma a manter e restaurar a saúde humana (Grady et al., 2017).

A homeostase intestinal implica um microbioma em que as bactérias exerçam comportamentos favoráveis à saúde humana, nos quais se incluem o aporte de nutrientes essenciais, a colonização competitiva contra patogénicos e maturação intestinal. Neste caso, a ecoterapêutica permite a deslocação de um ecossistema bacteriano irregular por um saudável e consistente em estirpes bacterianas oriundas (Collado, Cernada, Bäuerl, Vento, & Pérez-martínez, 2012).

O método aplicado neste modelo terapêutico é o Transplante de microbiota fecal (TMF), sendo que este, apresenta como base a substituição do microbioma intestinal, mas numa proporção superior (Grady et al., 2017).

2.4.1 Transplante da microbiota fecal

No século IV, na China, foram encontrados os primeiros registos do TMF. Nesta época o material fecal era designado por “sopa amarela” e era aplicado em pacientes com sintomas de diarreia grave. Desde então, diversas aplicações foram realizadas, normalmente sempre provenientes de distúrbios gastrointestinais como obstipação, diarreia e dor abdominal. Essas aplicações eram realizadas através de suspensões fecais frescas ou fermentadas nos pacientes (Wang et al., 2019).

Atualmente, o Transplante da microbiota fecal é considerada a aplicação terapêutica mais próspera no âmbito da ciência do microbioma. Este método tem como fim a transferência de material fecal de um dador saudável para o trato gastrointestinal de um recetor, alterando diretamente a composição do mesmo, por forma a conseguir normalizar a sua microbiota e consequentemente trazer benefício terapêutico, aliviando também os sintomas provenientes da doença (Surana, 2019).

2.4.1.1 Indicações atuais e possíveis indicações em investigação

A realização de múltiplos estudos veio demonstrar um grande potencial do Transplante de microbiota fecal no tratamento de infeções recorrentes e resistentes por *Clostridium difficile*, que pode ser atribuída à restauração equilibrada da microbiota após o TMF. A taxa de cura utilizando este método, é de aproximadamente 90%, contrariamente à percentagem dos métodos utilizando terapia antimicrobiana em que apenas são atingidas taxas de 20 a 30% (Wang et al., 2019).

Devido aos ótimos resultados obtidos no tratamento por *Clostridium difficile*, o TMF tem vindo a ser alvo de estudo de uma vasta gama de indicações terapêuticas que incluem a doença inflamatória intestinal (DII) que engloba a Colite Ulcerosa e a Doença de Crohn, a obesidade, a eliminação de medicamentos multirresistentes e condições psiquiátricas, como a ansiedade e a depressão. Demonstrando que a sua aplicação não é estritamente aplicável apenas a doenças gastrointestinais (Surana, 2019).

2.4.1.2 Critérios de seleção de doadores: inclusão e exclusão

A criação de controlos de triagem de doadores através da implementação de questionários, surgiu após conferência entre os Estados Unidos e a Europa, que em conformidade consideraram essencial a aplicação deste processo para que seja possível uniformizar os critérios de inclusão e exclusão de doadores (Wang et al., 2019).

A base deste processo de seleção centra-se na redução e prevenção de potenciais efeitos adversos que possam decorrer aquando a realização do TMF. A aplicação de protocolos padrão de triagem permite limitar ou preferencialmente eliminar os riscos de transmissão de infeções doador/recetor, através da realização de exames de sangue e fecais num prazo de 4 semanas antes da recolha. Para além disso, os doadores posteriormente selecionados, ainda têm de passar, no dia da recolha, por uma entrevista presencial, com o intuito de avaliar recentes comportamentos potencialmente nefastos (Vindigni & Surawicz, 2017).

Tendencialmente, um cônjuge ou familiar eram considerados dadores ideais para o TMF. Por um lado, o facto de haver uma partilha de ambiente entre o recetor e com o cônjuge pode minimizar o risco de transmissão de infeção, por outro a equivalência de espécies microbianas entre familiares é prevista, permitindo uma imunidade adaptativa no sistema imunológico da mucosa podendo apresentar maior tolerância em relação à microbiota do dador (Paramsothy et al., 2015).

Contudo, não foram demonstradas evidencias clínicas adicionais na relação doador e resultados do TMF. O tempo é um critério de extrema importância, é recomendado que o período de recolha e doação seja o mais curto possível, preferencialmente não excedendo os 21 dias após a recolha, possibilitando assim a redução do risco de contaminação (Wang et al., 2019).

Na tabela 3 e 4 estão representados, respetivamente, os critérios de inclusão e exclusão dos doadores.

Tabela 3 - Critérios de inclusão dos doadores. Adaptado: (Wang et al., 2019)

Critérios de Inclusão	Idades compreendidas entre os 18 e 65 anos
	Ausência de histórico ou sintomas atuais de doença gastrointestinal
	Ausência de outras comorbidades médicas
	Terapêutica corrente mínima
	Ausência medicação antimicrobiana (antifúngicos, antibióticos, antivirais) e probióticos nos últimos 3 meses

Tabela 4 - Critérios de exclusão dos doadores. Adaptado de: (Wang et al., 2019)

Critérios de Exclusão	Infeção por HIV, hepatite B ou C
	Exposição conhecida ao HIV ou hepatite viral nos últimos 12 meses
	Comportamento sexual de elevado risco
	Consumo de drogas ilícitas
	Tatuagem ou piercing nos últimos 6 meses
	Doença atual transmissível (ex: infeção do trato respiratório)
	Viagem nos últimos 6 meses para áreas do mundo onde diarreia do viajante é alto, assim como onde as doenças diarreicas são endémicas
	Historial de DII ou atual
	Historial ou síndrome atual do intestino irritável, obstipação crónica, diarreia crónica ou outra doença/condição gastrointestinal intrínseca
	Historial de polipose gastrointestinal conhecida ou historial familiar de cancro colorretal
	Histórico de cirurgia gastrointestinal importante (ex: circulação gástrica)
	Consumo de imunossupressores
	Membro familiar com infeção gastrointestinal ativa

Critérios de Exclusão	Doença atópica (ex: asma moderada a grave, eczema)
	Síndrome de dor crónica ou distúrbios do foro neurológico
	Síndrome metabólica, obesidade (IMC>30) ou desnutrição moderada a grave
	Histórico de doença oncológica ou terapia oncológica a decorrer
	Resistência em estabelecimento de assistência a longo prazo

A tabela 5 demonstra qual a especificidade dos exames, fecal e sanguíneo, realizados aos doadores.

Tabela 5 - Testes realizados aos doadores. Adaptado de: (Wang et al., 2019)

Exame de sangue	Exame fecal
Citomegalovírus	Reação em cadeia da polimerase da toxina <i>difficile</i> de <i>Clostridium</i>
Vírus de Epstein Barr	Microscopia fecal/cultura/sensibilidade com cultura bacteriana de rotina para patogénicos entéricos
Hepatite a, b, c, e	Antígeno fecal de <i>Giardia</i>
Sífilis	Antígeno fecal de <i>Cryptosporidium</i>
HIV-1 e HIV-2	Óvulos/cistos/parasitas fecais
<i>Entamoeba histolytica</i>	Imunoensaio com norovírus/rotavírus
Contagem completa de células sanguíneas com diferencial	Calprotectina
Proteína C reativa e taxa de sedimentação de eritrócitos	Exame de sangue oculto nas fezes
Albumina	
Ureia, creatinina e eletrólitos	
Aminotransferases, bilirrubina, gama-glutamyltransferase, fosfatase alcalina	

Anticorpos humanos contra vírus linfotrópicos T tipo I e II	
--	--

2.4.1.3 Preparação fecal e do recetor

No início da utilização do método TMF foi debatido se era preferível a utilização de material fecal fresco ou congelado, sendo que atualmente ainda não foi determinada nenhuma preparação ideal para a manutenção do material fecal. Vários ensaios clínicos, atuais, demonstram que a TMF congelada demonstra a mesma eficácia clínica que a TMF fresca, no tratamento da infeção por *Clostridium difficile* (Bakken et al., 2011).

A preparação do material fresco deve ser efetuada num prazo de 6 horas após a recolha realizada ao doador, podendo ser armazenada à temperatura ambiente até ao processo. Normalmente, são utilizadas 50g de material fecal (sendo que a quantidade mínima de utilização é de 30g) que é posteriormente misturado com, aproximadamente, 150 mL de cloreto de sódio estéril pelo misturador. A mistura resultante é posteriormente filtrada com um filtro ou gaze, de forma a remover partículas que possam obstruir o canal do endoscópio devido à sua dimensão. Por fim, o material filtrado é colocado em seringas de 60 mL (geralmente 4 a 5 tubos) e penetrado no trato GI do recetor (Camarota et al., 2017).

A colheita de fezes realizada a um conjunto de doadores pré-selecionados, a sua preparação, a separação do material fecal doado e as alíquotas de congelamento do material fecal selecionado são processos que são realizados num banco de fezes. Atualmente, existem diversos bancos de fezes espalhados pelo mundo por forma a suprir esta necessidade (Vindigni & Surawicz, 2017).

O material recolhido do dador sofre um processo rigoroso de controlo, rotulagem e o seu armazenamento é realizado a -80°C. No dia em que decorre a TMF, a suspensão fecal, devidamente armazenada até então, sofre um processo de descongelamento num banho de água quente (banho maria) a 37°C e após este processo é misturada a solução salina por forma a obter o volume esperado da suspensão. É importante referir que os processos de congelamento e degelo repetitivos devem ser evitados e que a TMF deve ser

realizada num período de 6 horas após o descongelamento da amostra fecal (Lee et al., 2016; Wang et al., 2019).

É de extrema importância um bom acompanhamento do paciente que irá ser submetido ao tratamento, independentemente da proveniência do material fecal ou da via de administração a ser utilizada é necessário o seu apoio e a criação de alguns hábitos educacionais do mesmo antes do tratamento. É importante que o recetor não tenha qualquer tipo de intervenção farmacológica antimicrobiana entre 12 a 48 horas antes da infusão fecal. A preparação prática do mesmo é como a de qualquer outro procedimento endoscópico onde é incluída uma preparação intestinal padrão. Esta preparação assenta numa limpeza mais extensa da zona intestinal do recetor, permitindo a eliminação de material contaminado antes da infusão das fezes do doador, garantindo assim um enxerto saudável. Estudos realizados, indicam a utilização de um antidiarreico, como por exemplo a loperamida, uma hora antes da realização do TMF para que seja possível garantir a permanência das fezes transplantadas pelo menos num período de quatro horas no intestino (Wang et al., 2019).

2.4.1.4 Métodos de entrega do material fecal

Atualmente, existem três vias de administração utilizadas na administração do material fecal, sendo estas, a via GI superior, a via GI inferior e a via oral.

A via GI superior pode compreender diversos tipos de administração, a via esofagogastroduodenoscopia (EGD), tubo nasogástrico, nasojejunal ou nasoduodenal. Esta via é preferencialmente utilizada em doentes com Síndrome do Cólon Irritável, contudo a sensação de desconforto durante a colocação do tubo, os riscos de aspiração e a incapacidade de avaliação da mucosa do cólon ou da colheita de amostras da mucosa representam algumas das limitações da utilização desta via.

A via GI inferior compreende dois tipos de administração, a colonoscopia ou o enema de retenção. O TMF a partir da colonoscopia tem o benefício de permitir a recolonização de todo o cólon com bactérias benéficas e a limpeza intestinal realizada previamente possivelmente reduz o número de organismos residuais e esporos, permitindo uma melhor visualização do cólon. Porém, é um procedimento invasivo,

relativamente arriscado e com custos elevados. Ao contrário do enema de retenção que se apresenta como um procedimento mais acessível a nível monetário e menos invasivo, contudo o material fecal do doador não pode ser entregue em todo o cólon, é limitado ao cólon distal.

A via oral tem como formulação a cápsula para a administração do TMF, esta via apresenta como vantagem uma aceitação favorável por parte dos pacientes, devido ao facto de ser um método menos invasivo, no entanto existe uma maior despesa associada e a exigência de uma carga superior.

Existem diversos estudos que permitem a avaliação das diversas vias de administração, porém nenhum deles demonstrou resultados consistentes na diferenciação da utilização de cada um deles. É importante referir que este tipo de tratamento pode ser realizado em apenas uma aplicação ou pode ser necessária a utilização de várias doses intensivas, sendo esta escolha baseada na resposta do paciente ao tratamento e na eficácia terapêutica.

Resumindo, atualmente ainda não existe nenhum método preferencial para a administração do TMF, levando a que a escolha do método ideal, seja realizada de acordo com situação clínica do doente.

2.4.1.5 Monitorização dos pacientes e segurança

O TMF é visto como um método terapêutico geralmente seguro e com poucos efeitos adversos, contudo os seus resultados a longo prazo ainda não foram completamente compreendidos por ser um tratamento relativamente novo o que limita a quantidade de disponibilização de dados (Grady et al., 2017).

A maioria dos ensaios clínicos e revisões demonstraram que estão associados alguns efeitos adversos de menor escala a este tipo de tratamento, como por exemplo, diarreia, obstipação, desconforto abdominal e febres baixas. No entanto os efeitos adversos graves manifestados decorrem da utilização de processos mais invasivos para a TMF como a endoscopia e da sedação (Wang et al., 2019).

2.4.1.6 Desafios e considerações futuras

A evidência da eficácia e segurança clinicamente comprovadas no TMF, é importante que sejam revistas e ponderadas alguma das limitações encontradas na aplicação neste tipo de tratamento. O risco de transmissão de doenças entre dador/recetor ainda está presente, a aceitação do recetor de alguns tipos de métodos de administração mais invasivos, os efeitos adversos manifestados e o impacto incerto no sistema imunológico do recetor ainda são alguns dos desafios encontrados neste método terapêutico.

É importante também salientar, a inexistência de um regulamento comum mundialmente para a aplicação deste tipo de terapêutica, atualmente ainda são utilizados diferentes regulamentos. Do ponto de vista clínico qualquer aplicação de TMF para além do tratamento ICD é considerado “off label”, portanto os benefícios e riscos da prática clínica devem ser cuidadosamente considerados.

Outra incerteza do TMF é a composição altamente dinâmica da microbiota viva, sensível a fatores externos, como a dieta e medicamentos.

Desta forma as pesquisas futuras devem centrar-se na identificação da microbiota intestinal, definindo a sua função e manipulando ainda mais a microbiota intestinal com precisão. É importante um TMF diferenciado e personalizado a cada doente, de acordo com os genótipos e fenótipos variados de hospedeiros e doenças.

3. Terapêutica com base em Produtos Bacterianos

3.1 Bacteriocinas

As bacteriocinas são peptídeos antimicrobianos sintetizados no ribossoma ou proteínas produzidas por bactérias com propriedades antimicrobianas. São moléculas anfipáticas catiónicas, possuem resíduos de lisina e arginina em excesso. Foram descritas pela primeira vez em 1925 e denominadas colicinas, mas apenas recentemente foi despertado o interesse que estas podem ter na área terapêutica. Têm um comprimento que pode variar entre 20 a 60 aminoácidos e são capazes de inibir bactérias patogénicas, Gram-positivo e Gram-negativo, de origem alimentar. Inicialmente foram descobertas na bactéria Gram-negativo, *Escherichia coli*, mas o interesse nas bacteriocinas produzidas por bactérias Gram-positivo, principalmente as produzidas pelas bactérias ácido-láticas, tem vindo a aumentar (Montalbán-lópez, Sánchez-hidalgo, Valdivia, Martínez-bueno, & Maqueda, 2011).

Elas são tóxicas para as bactérias que as produzem, mas pela presença de proteínas de imunidade, acabam por proteger as próprias bactérias. A interação que têm com a membrana celular e superficial da célula bacteriana faz com que os micróbios lhes sejam sensíveis (Kumariya et al., 2019).

3.1.1 Tipos de bacteriocinas

A classificação das bacteriocinas depende do tipo de critérios utilizados. Atualmente, o critério mais aceite consensualmente é a classificação de acordo com a sua estrutura. Existem então três classes de bacteriocinas: Classe I; Classe II e Classe III (Garcia-gutierrez, 2019).

A classe I diz respeito a peptídeos com menos de 10 kDa e estáveis ao calor. Nesta classe insere-se o grande grupo dos lantibióticos, estes são pequenos peptídeos, menos de 5 kDa, produzidos maioritariamente por bactérias Gram-positivo que passam por um processo de modificação pós-traducionais após a síntese no ribossoma. Este grupo é composto por aminoácidos modificados, como a desidroalanina e desidrobutitina, devido

à desidratação da serina e trionina, respetivamente. No total, foram descritos 17 aminoácidos considerados incomuns, cuja função é desconhecida, mas que podem levar a um aumento das suas propriedades biotecnológicas (Montalbán-lópez et al., 2011).

Além deste grande grupo, a classe I inclui também outros tipos de peptídeos. Um exemplo são as microcinas, produzidas por Enterobacteriaceae, e divididas em dois grupos baseados na sua massa molecular, nas ligações dissulfeto que possam estar presentes e em modificações pós-traducionais. As microcinas de classe I, com dimensões menos que 5 kDa, apresentam fortes modificações pós-traducionais e são codificadas em plasmídeos. As microcinas de classe II, podem ser diferenciadas ainda nas que são codificadas por plasmídeos e nas que são classificadas em cromossomas (Garcia-gutierrez, 2019).

Outro exemplo são os peptídeos do laço, como o nome indica, são caracterizados pela sua estrutura como um nó, incluindo um anel de macrolactama e são de origem bacteriana. Estes são divididos em três classes baseadas no número de pontes de dissulfeto. São conhecidos 38 peptídeos do laço e a maior parte foi isolada a partir do solo, lodo e bactérias da água. As exceções foram o zucínodin, isolado de células de eritroleucemia e a microcina J25, isolada das fezes de bebés. Esta última é composta por 21 aminoácidos e produzida por *E.coli* AY25 (Garcia-gutierrez, 2019).

Ainda parte da classe I são os sactibióticos e os peptídeos lineares contendo azol ou azolina. O primeiro é um grupo geral de peptídeos com atividade antimicrobiana, que possuem uma ponte intramolecular entre um enxofre de cisteína e um carbono α e apenas foram descritos quatro deste grupo, a subtilosina A, propionicina F, tiaurina H e tiaurina CD. Esta última foi isolada de uma bactéria do intestino humano e tem atividade específica contra *Clostridium difficile*. O segundo grupo é caracterizado por ter na sua composição anéis heterocíclicos combinados e são produzidos por ciclodesidratação de treonina, serina ou cisteína (Garcia-gutierrez, 2019).

A classe II é constituída por quatro subclasses e as bacteriocinas desta classe são caracterizadas como pequenos peptídeos estáveis ao calor e não sofrem modificações pós-traducionais. A classe IIa é a primeira deste subgrupo, é caracterizada por bacteriocinas do tipo pediocina que contêm uma sequência N-terminal altamente conservada. Na região

conservada possuem duas cistinas que formam a ligação dissulfeto para a atividade antimicrobiana (Montalbán-lópez et al., 2011).

A classe IIb para efetuar a atividade antimicrobiana, necessita de dois peptídeos diferentes que ajam sinergicamente. Já a classe IIc é caracterizada por peptídeos cíclicos de ligação covalente entre os terminais C e N e apresentam algum grau de hidrofobicidade. A classe IId é caracterizada por peptídeos únicos e não modificados, do tipo não- pediocina e lineares. Este último subgrupo foi composto para aglomerar bacteriocinas da classe II que não se encaixavam em nenhum outro subgrupo (Garcia-gutierrez, 2019).

A classe III é composta por proteínas grandes que sofrem mudanças com o calor. A caracterização das bacteriocinas desta classe não é concreta, no entanto são divididas em dois grupos de acordo com o seu mecanismo de ação. A classe IIIa, bacteriolisinas, são bacteriocinas que lisam as células e a classe IIIb, bacteriocinas não líticas, são bacteriocinas que perturbam o potencial da membrana. A classe IIIa inclui as colicinas, as primeiras bacteriocinas a serem descobertas (Montalbán-lópez et al., 2011).

3.1.2 Mecanismo de ação

A nível do mecanismo de ação das bacteriocinas, estas podem atuar em diferentes fases tais como: atuar a nível da membrana, podendo agir como formadores de poros ou perturbadores da mesma, ou atuar a nível dos processos de divisão celular. Este tipo de mecanismos faz com que as bacteriocinas sejam capazes de inibir o crescimento de patogénicos, desempenhar um papel na “sinalização” de peptídeos e defender a bactéria produtora. Duas características específicas destes produtos bacterianos são a possibilidade de poderem aumentar a sua atividade na presença de outras substâncias, nomeadamente o ácido láctico, e o fraco desenvolvimento de resistências contra elas (Schulz, Pereira, Bonelli, Nunes, & Batista, 2003).

Relativamente às bacteriocinas classificadas como lantibióticos, o mecanismo de ação não é igual para todos, mas o mais comum é através da ligação do lipídio II, visto que este é responsável por processos de formação da parede celular. Existem dois mecanismos possíveis de romper a parede celular, ou inibindo a sua síntese ou a formação

de poros. Um dos lantibióticos mais estudado, a Nisina, é capaz de executar as duas funções para romper a parede celular. Inicialmente, a nisina, através de uma interação eletrostática, faz a ligação à membrana da célula-alvo. No mecanismo de formação de poros, a nisina entra nas bicamadas lipídicas como um monómero, estes monómeros agregam-se lateralmente dando origem aos poros. Posteriormente é atraída para a membrana, e os seus resíduos hidrofóbicos são inseridos na parte externa da bicamada lipídica. Em bactérias Gram-negativo, a eficácia dos lantibióticos não é elevada, uma vez que a atividade dos lantibióticos é na parede células e este tipo de bactérias possui membranas externas que impossibilitam a entrada na parede celular bacteriana (Montalbán-lópez et al., 2011; Schulz et al., 2003).

O mecanismo de ação das bacteriocinas classificadas como microcinas é centrado na imitação de compostos essenciais para nutrição, que serão incorporados na célula-alvo, através da deteção destes por recetores da membrana externa. Já dentro da célula-alvo, elas são capazes de interagir com a membrana interna ou de possibilitar a ligação enzimática. Quanto às bacteriocinas classificadas como peptídeos do laço, sabe-se que possuem uma atividade inibitória contra enzimas e exibem comportamento antagonista nos recetores (Garcia-gutierrez, 2019).

As bacteriocinas da classe II no seu mecanismo de interação com a membrana dependem de fosfolípidos aniónicos e a sua ação é mediada por um tipo de recetor. Na classe IIa, tipo pediocina, o mecanismo de ação passa pela permeabilização da parede celular da bactéria, sendo que o recetor alvo é o sistema transportador de açúcar de manose fosfotransferase, encontrado tanto em bactérias Gram-negativo como em Gram-positivo. Na classe IIb, os peptídeos são, por norma, catiónicos e hidrofóbicos ou anfifílicos e o seu mecanismo de ação é semelhante ao da classe IIa, através da permeabilização da membrana (Moll, Konings, & Driessen, 1999; Schulz et al., 2003).

As bacteriocinas da classe III dividem-se em duas subclasses de acordo com o seu mecanismo de ação. As bacteriocinas da classe IIIa que são responsáveis pela lise da célula-alvo e as da classe IIIb são responsáveis pela perturbação do potencial da membrana. Na classe IIIa, as bacteriocinas mais importantes são as colicinas, estas têm a capacidade de se ligar a recetores específicos na superfície das células-alvo, por este motivo conseguem inibir a síntese macromolecular, resultando numa quebra do ADN levando assim à interrupção da síntese de proteínas (Garcia-gutierrez, 2019).

3.1.3 Bacteriocinas na saúde humana

Uma das principais utilizações das bacteriocinas é como conservante alimentar, não só para produtos lácteos como também para legumes, fruta, carnes e peixe. Neste âmbito, um exemplo da sua utilização é na conservação da carne, a bacteriocina nisina ou a pediocina PA-1 inibem o crescimento de *Listeria monocytogenes*. Outro exemplo é na redução da contaminação do queijo, em que a bacteriocina utilizada é a produzida por *Enterococcus*. Por esta razão, as bacteriocinas são consideradas aditivos alimentares naturais e seguros, têm efeito microbiano, estabilidade e não alteram o sabor dos alimentos (Lopetuso et al., 2019).

Outra aplicação das bacteriocinas que tem vindo a crescer significativamente até aos dias de hoje é a sua utilização na área de oncologia. Estas são capazes de estimular a secreção de citocinas e tornar o tratamento com os agentes anticancerígenos mais eficaz. Além disso são também capazes de induzir uma resposta imunomoduladora contra as células T e B humanas (Chikindas, Weeks, Drider, Chistyakov, & Dicks, 2018).

A utilização das bacteriocinas em produtos de saúde é uma nova oportunidade para o controlo de microrganismos, uma vez que é cada vez mais crescente a resistência antimicrobiana. As áreas de maior interesse para a sua utilização passam pelo trato respiratório e gastrointestinal, assim como no controlo de infeções bacterianas pós-cirúrgicas. Esta utilização deve-se ao facto de serem consideradas como antimicrobianos naturais produzidas por bactérias do trato humano. A sua produção em ambientes microbianos mistos, confere também a capacidade de regulação da flora comensal no humano, proporcionando um equilíbrio entre bactérias benéficas e bactérias causadoras de patologias (Lopetuso et al., 2019).

3.2 Ácidos Gordos de Cadeia Curta

Os Ácidos Gordos de Cadeia Curta (AGCC's) são metabolitos microbianos, fisiologicamente ativos, que resultam da fermentação de carboidratos solúveis, presentes nas fibras alimentares. Estes tornam-se disponíveis no microbioma intestinal e são então fermentados pelas bactérias da flora comensal do colón. A fermentação destes ácidos pode ser modificada por diversos fatores, como por exemplo o tipo de substrato de fermentação. São caracterizados pela presença de uma cadeia alifática que pode conter na sua composição até seis carbonos e são uma das fontes de energia principais para o hospedeiro e para a flora microbiótica do mesmo (Felizardo, Kazue, Watanabe, Dardi, & Rossoni, 2019).

Os AGCC's são ativadores naturais dos recetores 2 e 3 acoplados à proteína-G, GPR42/FFAR2 e GPR41/FFAR3, respetivamente. Estes recetores são encontrados, por exemplo, em células do sistema imunológico endócrino e epitélio intestinal, podendo ter efeitos a nível da resposta imune e inflamatória, homeostase de energia e regulação hormonal. Por estas razões, o papel dos AGCC's é importante na saúde humana (Mohajeri et al., 2018).

Foi em 1878 que foi observada a presença de AGCC's nas fezes humanas, e em 1912 Bahrtdt propôs a hipótese destes, influenciarem a absorção intestinal. De acordo com vários estudos, os AGCC's são benéficos para a saúde e, como tal, a Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda a ingestão diária de 20g/1000kcal de fibras em adultos (Campos, Habr-Gama, Plopper, Terra, & Waitzberg, 1999; Tan et al., 2014).

3.2.1 Tipos de Ácidos Gordos de Cadeia Curta

Os AGCC's são maioritariamente produzidos através da fermentação de sacarídeos indigestíveis que escapam à digestão e absorção. Estes são classificados como polissacarídeos não amiláceos ou fibras alimentares e dependendo do seu nível de solubilidade, são classificados como solúveis ou insolúveis (Tan et al., 2014).

Os principais AGCC's são o butirato, acetato e propionato, resultantes da fermentação microbiana no intestino.

O acetato pode ser produzido do piruvato por duas vias, a via da acetil coenzima A e a via de Wood-Ljungdahl. As bactérias responsáveis pela produção deste AGCC's via cetil Co-A são, maioritariamente, Gram-negativo e bactérias anaeróbias da microbiota intestinal, são exemplos bactérias do género *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Ruminococcus* (Gram-positivo). As bactérias responsáveis pela produção de AGCC's via Wood-Ljungdahl são Gram-positivo e anaeróbias, como por exemplo as bactérias do género *Clostridium* (anaeróbio estrito) e *Streptococcus* (anaeróbia facultativa) (Koh, De Vadder, Kovatcheva-Datchary, & Bäckhed, 2016).

O propionato pode ser produzido por três vias, a partir do succinato pela via do succinato, a partir do acrilato pela via do acrilato ou a pela via do propanodiol com açúcares desoxihexose como substratos. Exemplos de bactérias responsáveis pela produção deste AGCC's via succinato são bactérias do género *Bacteroides*, *Dialister* e *Veillonella*. Exemplos de bactérias responsáveis pela produção de AGCC's via acrilato são bactérias das espécies *Megasphaera elsdenii* e *Coprococcus catus*. Exemplos de bactérias responsáveis pela produção deste AGCC's via propanodiol são bactérias do género *Salmonella* e das espécies *Roseburia inulinivorans* e *Ruminococcus obeum* (Koh et al., 2016).

O butirato pode ser produzido por duas vias, a primeira é através da condensação de duas moléculas de acetil Co-A convertida em butirato pela via clássica, fosfotransbutirilase e butirato quinase. A segunda é através da transformação da butiril Co-A em butirato pela via butiril-CoA: acetato de CoA-transferase. Exemplos de bactérias responsáveis pela produção de AGCC's via fosfotransbutirilase e butirato quinase são bactérias das espécies *Coprococcus comes* e *Coprococcus eutactus*. Nesta última via, podem ser utilizados dois tipos de substratos para a síntese de butirato, o lactato e o acetato. Exemplos de bactérias responsáveis pela produção de AGCC's via butiril-CoA: acetato de CoA-transferase são bactérias dos géneros *Anaerostipes* (capaz de utilizar os dois substratos) e *Roseburia* (só utiliza acetato como substrato) e bactérias das espécies *Coprococcus catus*, *Eubacterium rectale*, *Faecalibacterium prausnitzii* (utilizam apenas acetato como substrato) e *Eubacterium hallii* (capaz de utilizar os dois substratos) (Koh et al., 2016).

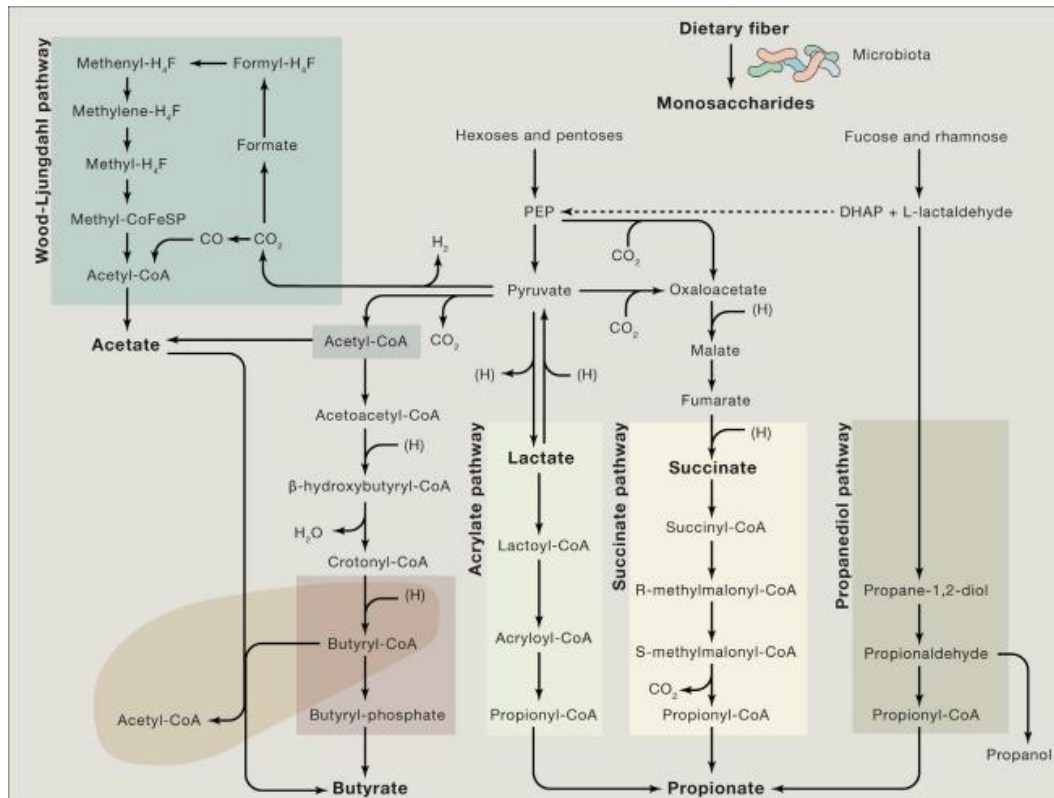


Figura 3 - Mecanismo de Produção de AGCC's. Adaptado de: (Koh et al., 2016)

3.2.3 Mecanismo de ação dos Ácidos Gordos de Cadeia Curta

A maioria dos AGCC's são produzidos e utilizados no intestino, mas existe uma parte de propionato e acetato que alcançam o fígado onde servem de substratos para a metabolização da glucose. Uma das características destes AGCC's é o facto de serem capazes de modelar a resposta biológica no organismo hospedeiro. Esta modelação pode ocorrer de duas maneiras diferentes. A primeira é através da inibição direta de histonas desacetilases (HDAC's), estas histonas são responsáveis pelo enrolamento das cadeias de ADN, removendo os grupos acetil de uma lisina, a sua inibição leva a uma alteração na expressão génica. O butirato é considerado o inibidor mais potente das HDAC's, dentro do AGCC's. O mecanismo de ação não é exato, mas sabe-se que os AGCC's podem ter uma ação direta, entrando nas células por transportadores, ou uma ação indireta através da ativação dos recetores acoplados à proteína-G. Uma das propriedades desta inibição é a modelação da resposta imunológica anti-inflamatória (Tan et al., 2014).

O segundo mecanismo de modelação da resposta biológica dos AGCC's, é através do seu efeito na cascata de sinalização através dos recetores acoplados à proteína-G. Os recetores ativados pelos AGCC's são o GPR41, o GPR43 e o GPR109A. O acetato é o AGCC's mais seletivo para a função do GPR43, este recetor é expressado ao longo do trato gastrointestinal. O GPR43 é recetor do acetato e propionato, e com menor poder do butirato e é expressado na mucosa do colón. O GPR109A liga-se principalmente ao butirato e é transcrito principalmente nas células adiposas (Tan et al., 2014).

3.2.4 Ácidos Gordos de Cadeia Curta na Saúde Humana

Os ácidos gordos de cadeia curta têm várias aplicações na saúde humana, uma das principais é a nível do mecanismo anti-inflamatório do sistema imunológico intestinal. O butirato é capaz de inibir a interleucina-12 e regular a produção de interleucina-10 nos monócitos humanos, reprimir a produção de moléculas pró-inflamatórias e diminuição da atividade do fator nuclear kB (NF-kB) (Morrison & Preston, 2016).

Os AGCC's têm também ação sobre o eixo intestino-cérebro através da estimulação direta das fibras nervosas aferentes, responsáveis pela enervação da parede intestinal. Estes ácidos podem também ter influência no cancro do colón pela sua expressão nos recetores GPR109A e GPR43, especificamente, o butirato tem um papel protetor no colón dos indivíduos afetados pela redução da proporção de bactéria produtoras de butirato (Dalile, Oudenhove, Vervliet, & Verbeke, 2019).

A nível do sistema respiratória os AGCC's, nomeadamente o acetato, têm um papel redutor na incidência de asma alérgica, são capazes de aumentar a função regulatória das células T pela inibição de HDACs. Os AGCC's são importantes pelo seu papel de produtores de energia e em processos de sinalização. O maior obstáculo ao estudo destes ácidos é o facto de não ser conhecido o exato mecanismo de ação no organismo do hospedeiro e a possibilidade da sua ação diferir de acordo com o tipo de tecidos onde atuam (Koh et al., 2016)

4. Conclusão

De acordo com a revisão efetuada conseguimos perceber o crescimento constante, nas últimas décadas, do interesse na aplicação das bactérias e dos produtos resultantes das mesmas, como potenciais agentes terapêuticos.

Os probióticos apesar de já serem amplamente estudados, é de notar a necessidade de implementação de regulamentos e critérios de seleção com base na sua segurança, funcionalidade e usabilidade. Estes critérios surgem da procura por melhores resultados terapêuticos, através da seleção da estirpe mais adequada para a administração num determinado paciente.

A terapêutica probiótica no trato gastrointestinal permanece como uma das principais vias mais estudada e com resultados eficazes já conhecidos. Contudo, sendo uma área de saúde, ainda apresenta as suas limitações o que leva a um estudo continuado da mesma. Por outro lado, o surgimento de resultados promissores de alguns estudos realizados nos últimos anos, noutras áreas, como a dermatite atópica e na saúde mental, levou a novas questões sobre a extensão do seu espectro de ação e do conhecimento de novas estirpes.

Os prebióticos surgem como uma abordagem terapêutica próspera pela sua capacidade de potenciar o desenvolvimento benéfico de bactérias comensais, criando um estado de homeostase no organismo do hospedeiro. Por outro lado, a fermentação resultante da sua interação com algumas estirpes bacterianas, permite a obtenção de um promissor produto bacteriano como agente terapêutico, os AGCC's.

A terapêutica com base nos simbióticos visa colmatar algumas das limitações dos probióticos e prebióticos. Desta forma, foram realizadas algumas combinações dos mesmos permitindo um efeito sinérgico nas áreas da sua aplicação.

Uma das limitações da terapêutica referida anteriormente é a utilização de apenas uma ou de algumas estirpes bacterianas. O transplante da microbiota fecal surge como uma terapêutica mais eficaz no âmbito da ciência do microbioma, pela implementação de um ecossistema microbiano complexo no organismo do hospedeiro. Contudo, esta

abordagem terapêutica ainda apresenta algumas limitações ao nível da segurança e dos métodos utilizados.

As bacteriocinas são produtos bacterianos que apresentam capacidade de inibição, tanto de bactérias Gram-negativo como de Gram-positivo, tornando-se tóxicas para as bactérias que as produzem. Contudo, o facto de conterem proteína de imunidade acabam por proteger as próprias bactérias. Estas apresentam diversas classes e um dos seus principais usos atualmente é como conservante alimentar.

Em resumo, as bactérias e seus produtos podem ser utilizados como terapêutica em várias áreas relevantes na saúde humana. A sua diversidade de ação e eficácia demonstrada determinam um amplo espectro de abordagens terapêuticas promissoras na saúde humana, criando uma oportunidade de estudo de terapêuticas direcionadas.

Porém, as limitações ainda demonstradas sugerem a necessidade de continuidade da sua investigação e da realização de novos estudos clínicos.

5. Referências Bibliográficas

- Ambalam, P., Raman, M., Purama, R. K., & Doble, M. (2016). Probiotics, Prebiotics and Colorectal Cancer Prevention. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2016.02.009>
- Amsterdamska, O. (2008). Bacteriology, Historical. In *International Encyclopedia of Public Health* (pp. 282–286).
- Bakken, J. S., Borody, T., Brandt, L. J., Brill, J. V, Demarco, D. C., Franzos, M. A., ... Surawicz, C. (2011). Treating Clostridium difficile Infection With Fecal Microbiota Transplantation. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 9(12), 1044–1049. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2011.08.014>
- Blevins, S. M., & Bronze, M. S. (2010). Robert Koch and the ‘ golden age ’ of bacteriology. *International Journal of Infectious Diseases*, 14, 744–751. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2009.12.003>
- Boem, F., & Amedei, A. (2019). Healthy axis : Towards an integrated view of the gut-brain health. *World Journal of Gastroenterology*, 25(29), 3838–3841. <https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i29.3838>
- Cammarota, G., Ianiro, G., Tilg, H., Rajili, M., Kump, P., Satokari, R., ... Nieuwdorp, M. (2017). European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut*, 569–580. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2016-313017>
- Campos, F. G. C. M., Habr-Gama, A., Plover, C., Terra, R. M., & Waitzberg, D. A. N. L. (1999). Ácidos graxos de cadeia curta e doenças colorretais. *Rev. Bras. Coloproctol*, 19(1), 11–16.
- Catinean, A., Neag, M. A., Mitre, A. O., Bocsan, C. I., & Buzoianu, A. D. (2019). Microbiota and Immune-Mediated Skin Diseases — An Overview. *Microorganisms*, 7, 1–17.
- Cheng, L., Liu, Y., Wu, C., Wang, S., & Tsai, Y. (2019). Psychobiotics in mental health, neurodegenerative and neurodevelopmental disorders. *Journal of Food and*

- Drug Analysis*, 27(3), 632–648. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2019.01.002>
- Chikindas, M. L., Weeks, R., Drider, D., Chistyakov, V. A., & Dicks, L. M. T. (2018). Functions and emerging applications of bacteriocins. *Current Opinion in Biotechnology*, 49, 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.07.011>
- Chong, P. P., Chin, V. K., Looi, C. Y., Wong, W. F., & Madhavan, P. (2019). The Microbiome and Irritable Bowel Syndrome – A Review on the Pathophysiology , Current Research and Future Therapy. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01136>
- Coleman, O. I., & Haller, D. (2018). Bacterial Signaling at the intestinal epithelial interface in inflammation and Cancer. *Frontiers in Immunology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01927>
- Collado, M. C., Cernada, M., Bäuerl, C., Vento, M., & Pérez-martínez, G. (2012). Microbial ecology and host-microbiota interactions during early life stages. *Gut Microbes*, 3(4), 352–365.
- Dalile, B., Oudenhove, L. Van, Vervliet, B., & Verbeke, K. (2019). The role of short-chain fatty acids in microbiota–gut–brain communication. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0157-3>
- Davani-Davari, D., Negahdaripour, M., Karimzadeh, I., Seifan, M., Mohkam, M., Masoumi, S. J., ... Ghasemi, Y. (2019). Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms, and Clinical Applications. *Foods*, 1–27. <https://doi.org/10.3390/foods8030092>
- Eslamparast, T., Zamani, F., Hekmatdoost, A., Sharafkhah, M., Eghtesad, S., Malekzadeh, R., & Poustchi, H. (2014). Effects of synbiotic supplementation on insulin resistance in subjects with the metabolic syndrome : a randomised , double-blind , placebo-controlled pilot study. *British Journal of Nutrition*, 438–445. <https://doi.org/10.1017/S0007114514000919>
- Felizardo, F., Kazue, I., Watanabe, M., Dardi, P., & Rossoni, L. V. (2019). The interplay among gut microbiota, hypertension and kidney diseases: the role of short-chain fatty acids. *Pharmacological Research*.

<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.01.019>

- Ford, A. C., Quigley, E. M. M., Harris, L. A., Lacy, B. E., & Moayyedi, P. (2018). Systematic review with meta - analysis : the efficacy of prebiotics , probiotics , synbiotics and antibiotics in irritable bowel syndrome. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 1044–1060. <https://doi.org/10.1111/apt.15001>
- Ford, A. C., Quigley, E. M. M., Lacy, B. E., Lembo, A. J., Saito, Y. A., Schiller, L. R., ... Moayyedi, P. (2014). Efficacy of Prebiotics , Probiotics , and Synbiotics in Irritable Bowel Syndrome and Chronic Idiopathic Constipation : Systematic Review and Meta-analysis. *The American Journal of Gastroenterology*, 1547–1561. <https://doi.org/10.1038/ajg.2014.202>
- Garcia-gutierrez, E. (2019). Gut microbiota as a source of novel antimicrobials. *Gut Microbes*, 1–21. <https://doi.org/10.1080/19490976.2018.1455790>
- Grady, N. G., Petrof, E. O., Claud, E. C., & Hospital, K. G. (2017). Microbial therapeutic interventions. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*, 21(6), 418–423. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2016.04.005>. Microbial
- Gurry, T. (2017). Synbiotic approaches to human health and well-being. *Microbial Biotechnology*, 10, 1070–1073. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12789>
- Kayser, F. H., Bienz, K. A., Eckert, J., & Zinkernagel, R. M. (2005). *Kaiser, Medical Microbiology. Microbiology*. <https://doi.org/10.1007/s00117-009-1950-8>
- Kioui, D. E., Karapetsas, A., Karolidou, K., Panayiotidis, M. I., Pappa, A., & Galanis, A. (2019). Probiotics in Extraintestinal Diseases : Current Trends and New Directions. *Nutrients*, 1–26. <https://doi.org/10.3390/nu11040788>
- Koh, A., De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., & Bäckhed, F. (2016). From Dietary Fiber to Host Physiology : Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. *Cell*, 165(6), 1332–1345. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.05.041>
- Krumbeck, J. A., Walter, J., & Hutkins, R. W. (2018). Synbiotics for Improved Human Health : Recent Developments , Challenges , and Opportunities. *Annual Review of Food Science and Technology*, 451–482.

- Kumariya, R., Garsa, A. K., Rajput, Y. S., Sood, S. K., Akhtar, N., & Patel, S. (2019). Bacteriocins: Classification, synthesis, mechanism of action and resistance development in food spoilage causing bacteria. *Microbial Pathogenesis*, 128, 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.01.002>
- Lakhtakia, R. (2014). The Legacy of Robert Koch. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 14(1), 37–41.
- Lee, C. H., Steiner, T., Petrof, E. O., Smieja, M., Roscoe, D., Nematallah, A., ... Kim, P. T. (2016). Frozen vs Fresh Fecal Microbiota Transplantation and Clinical Resolution of Diarrhea in Patients With Recurrent. *JAMA*, 6(2), 142–149. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.18098>
- Lichtenstein, L., Avni-biron, I., & Ben-bassat, O. (2016). Probiotics and prebiotics in Crohn's disease therapies. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2016.02.002>
- Long-smith, C., Riordan, K. J. O., Clarke, G., Stanton, C., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2019). Microbiota-Gut-Brain Axis : New Therapeutic Opportunities. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 1–26.
- Lopetuso, L. R., Giorgio, M. E., Saviano, A., Scaldaferri, F., Gasbarrini, A., & Cammarota, G. (2019). Bacteriocins and Bacteriophages : Therapeutic Weapons for Gastrointestinal Diseases ? *International Journal of Molecular Sciences*. <https://doi.org/10.3390/ijms20010183>
- Markowiak, P., & Slizewska, K. (2017). Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. *Nutrients*. <https://doi.org/10.3390/nu9091021>
- Mohajeri, M. H., Brummer, R. J. M., Rastall, R. A., Weersma, R. K., Harmsen, H. J. M., Faas, M., & Eggersdorfer, M. (2018). The role of the microbiome for human health : from basic science to clinical applications. *European Journal of Nutrition*, 57(1), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s00394-018-1703-4>
- Moll, G. N., Konings, W. N., & Driessen, A. J. M. (1999). Bacteriocins : mechanism of membrane insertion and pore formation. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 76, 185–198.

- Montalbán-lópez, M., Sánchez-hidalgo, M., Valdivia, E., Martínez-bueno, M., & Maqueda, M. (2011). Are Bacteriocins Underexploited ? NOVEL Applications for OLD Antimi- crobials. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 1205–1220.
- Morrison, D. J., & Preston, T. (2016). Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes*, 7(3), 189–200. <https://doi.org/10.1080/19490976.2015.1134082>
- Nations, U. (n.d.). *TRANSFORMING OUR WORLD: THE 2030 AGENDA FOR SUSTAINABLE DEVELOPMENT*. Retrieved from [https://sustainabledevelopment.un.org/content/documents/21252030 Agenda for Sustainable Development web.pdf](https://sustainabledevelopment.un.org/content/documents/21252030%20Agenda%20for%20Sustainable%20Development%20web.pdf)
- Oleskin, A. V., & Shenderov, B. A. (2019). Probiotics and Psychobiotics : the Role of Microbial Neurochemicals. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s12602-019-09583-0>
- Pandey, K. R., Naik, S. R., & Vakil, B. V. (2015). Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. *J Food Sci Technol*, 52(12), 7577–7587. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1921-1>
- Paramsothy, S., Borody, T. J., Lin, E., Finlayson, S., Walsh, A. J., Samuel, D., ... Kaakoush, N. (2015). Donor Recruitment for Fecal Microbiota Transplantation. *Inflammatory Bowel Diseases*, 21(7), 1600–1606. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000405>
- Parmar, A. (2016). Gut – brain axis , psychobiotics , and mental health. *Asian Journal of Psychiatry*, 22, 84–85. <https://doi.org/10.1016/j.ajp.2016.05.004>
- Puebla-barragan, S., & Reid, G. (2019). Forty-five-year evolution of probiotic therapy. *Microbial Cell*, 6(4), 184–196. <https://doi.org/10.15698/mic2019.04.673>
- Raay, T. V. A. N., & Allen-vercoe, E. (2017). Microbial Interactions and Interventions in Colorectal Cancer. *Microbiol Spectrum*, 5(3). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.BAD-0004-2016>.Correspondence
- Rafter, J., Bennett, M., Caderni, G., Clune, Y., Hughes, R., Karlsson, P. C., ... Collins,

- J. K. (2007). Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 85(2), 488–496. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/ajcn/85.2.488>
- Raman, M., Ambalam, P., Kondepudi, K. K., Pithva, S., Kothari, C., Patel, A. T., ... Vyas, B. R. M. (2013). Potential of probiotics , prebiotics and synbiotics for management of colorectal cancer. *Gut Microbes*, 4(3), 181–192. <https://doi.org/https://doi.org/10.4161/gmic.23919>
- Rao, A. V., Bested, A. C., Beaulne, T. M., Katzman, M. A., Iorio, C., Berardi, J. M., & Logan, A. C. (2009). A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of a probiotic in emotional symptoms of chronic fatigue syndrome. *Gut Pathogens*, 6, 1–6. <https://doi.org/10.1186/1757-4749-1-6>
- Sanchez, M., Darimont, C., Drapeau, V., Emady-azar, S., Lepage, M., Rezzonico, E., ... Tremblay, A. (2014). Effect of Lactobacillus rhamnosus CGMCC1 . 3724 supplementation on weight loss and maintenance in obese men and women. *British Journal of Nutrition*, 1507–1519. <https://doi.org/10.1017/S0007114513003875>
- Schleifer, K. H. (2009). Classification of Bacteria and Archaea: Past, present and future. *Systematic and Applied Microbiology*, 32(8), 533–542. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2009.09.002>
- Schulz, D., Pereira, M. A., Bonelli, R. R., Nunes, M. M., & Batista, C. R. V. (2003). Bacteriocina: Mecanismo de ação e uso na conservação de alimentos. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, 14(2), 229–235.
- Shokryazdan, P., Faseleh, M., & Navidshad, B. (2016). Effects of prebiotics on immune system and cytokine expression. *Medical Microbiology and Immunology*. <https://doi.org/10.1007/s00430-016-0481-y>
- Šmid, A., Strniša, L., Bajc, K., & Vujic, D. (2016). Randomized clinical trial : The effect of fermented milk with the probiotic cultures Lactobacillus acidophilus La-5 ® and Bifidobacterium BB-12 ® and Beneo dietary fibres on health-related quality of life and the. *Journal of Functional Foods*, 24, 549–557. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.04.031>

- Suez, J., Zmora, N., Segal, E., & Elinav, E. (2019). The pros , cons , and many unknowns of probiotics. *Nature Medicine*, 25. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0439-x>
- Surana, N. K. (2019). Moving Microbiome Science from the Bench to the Bedside : a Physician-Scientist Perspective. *MSystems*, 4, 1–4. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00160-19>
- Tan, J., Mckenzie, C., Potamitis, M., Thorburn, A. N., Mackay, C. R., & Macia, L. (2014). *The Role of Short-Chain Fatty Acids in Health and Disease. Advances in Immunology* (1st ed., Vol. 121). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800100-4.00003-9>
- Tsai, Y., Lin, T., Chang, C., Wu, T., Lai, W., & Lu, C. (2019). Probiotics , prebiotics and amelioration of diseases. *Journal of Biomedical Science*, 6, 1–8. <https://doi.org/doi: 10.1186/s12929-018-0493-6>.
- Ursell, L. K., Metcalf, J. L., Parfrey, L. W., & Knight, R. (2012). Defining the human microbiome. *Nutrition Reviews*, 70. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2012.00493.x>
- Vindigni, S. M., & Surawicz, C. M. (2017). Fecal Microbiota Transplantation. *Gastroenterology Clinics of North America*, 46(1), 171–185. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2016.09.012>
- Wang, J., Kuo, C., Kuo, F., Wang, Y., Hsu, W., Yu, F., & Wu, D. (2019). Fecal microbiota transplantation : Review and update. *Journal of the Formosan Medical Association*, 118, S23–S31. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2018.08.011>
- Worboys, M. (2001). *History of Bacteriology*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/npg.els.0003073>